

Aptima® HBV Quant Assay

Käyttöohje
In vitro -diagnostiseen käyttöön
 Ainoastaan vientiin Yhdysvalloista

Yleistä tietoa	2
Käyttötarkoitus	2
Testin tiivistelmä ja selitys	2
Menetelmän toimintaperiaate	3
Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä	3
Varoitukset ja varotoimet	4
Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset	9
Näytteiden ottaminen ja säilyttäminen	10
Panther-järjestelmässä säilytetyt näytteet	13
Näytteen siirto	13
Panther-järjestelmä	14
Toimitetut reagenssit ja materiaalit	14
Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen	15
Valinnaiset materiaalit	16
Panther-järjestelmän testausmenetelmä	17
Menetelmää koskevia huomautuksia	20
Laadunvalvonta	22
Määrittämisen kalibrointi	22
Negatiiviset ja positiiviset kontrollit	22
Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli	22
Tulosten tulkinta	23
Rajoitukset	24
Analyttinen suorituskyky	25
Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia	25
Havaitsemisraja HBV-genotyyppien kesken	25
Lineaarinen alue	26
Lineaarisuus HBV-genotyyppien kesken	27
Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)	
käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia	27
Kvantitoinnin alaraja (LLoQ) HBV-genotyyppien kesken	29
Jäljitettävyyden WHO:n kolmannen kansainvälisen standardin mukaan	31
Toistotarkkuus	31
Mahdollisesti häiritsevät aineet	33
Analyttinen spesifisyys	35
Matriisin ekvivalenssi	36
Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:3)	36
Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:100)	37
LLoQ:n vahvistaminen näytteillä, jotka on laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella	39
Laimennettujen näytteiden toistotarkkuus	39
Näytteiden välinen kontaminaatio	40
Toistettavuus	40
Kliininen suorituskyky	42
Menetelmän korrelaatio	42
Kliininen käytettävyys	42
Lähdeluettelo	51
Yhteystiedot ja versiohistoria	52

Yleistä tietoa

Käyttötarkoitus

Aptima® HBV Quant -määritys on nukleiinihappojen *in vitro* -monistuskoe hepatiitti B -viruksen (HBV) DNA:n kvantitoimiseksi ihmisen plasmasta ja seerumista täysin automaattisella Panther™-järjestelmällä.

Plasma voidaan valmistella etyleenidiamiinitetraetikkahappoon (EDTA), antikoagulanttiseen sitraattidekstroosi (Anticoagulant Citrate Dextrose, ACD) -liuokseen ja plasman valmisteluputkiin (Plasma Preparation Tube, PPT). Seerumi voidaan valmistella seerumiputkissa ja seerumin erotusputkissa (Serum Separator Tube, SST). Näytteet testataan käyttämällä täysautomaattista Panther-järjestelmää, jolla suoritetaan näytteiden käsittely, monistus ja kvantitointi.

HBV-genotyyppiä A, B, C, D, E, F, G ja H sisältävät näytteet on validoitu kvantitoitaviksi määrittelyssä.

Aptima HBV Quant -määritys on tarkoitettu avuksi HBV-infektiota sairastavien ja HBV-lääkitystä saavien potilaiden hoidossa. Määrityksellä voidaan mitata HBV:n DNA-tasoa lähtötilanteessa ja hoidon aikana arvioitaessa viruksen hoitovastetta. Aptima HBV Quant -määrityksen tulokset on tulkittava kaikkien asiaankuuluvien kliinisten ja laboratoriolöydösten kontekstissa.

Aptima HBV Quant -määritystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi veren tai verivalmisteiden HBV-DNA-sisällön seulontatestinä eikä diagnostisena testinä HBV-infektion olemassaolon vahvistamiseksi.

Testin tiivistelmä ja selitys

Hepatiitti B -viruksen, joka on yksi monista hepatiittia aiheuttavista viruksista, on todettu liittyvän elinikäiseen HBV-infektioon, maksakirroosiin, maksasyöpään, maksan toimintahäiriöön ja mahdollisesti kuolemaan. Maailman terveysjärjestö (WHO) pitää HBV:tä yhtenä maailman yleisimmistä infektioitaudeista. HBV-infektion sairastumistiheys ja tartuntatapa vaihtelee suuresti maailman eri puolilla. Vuonna 2019 arviolta 296 miljoonaa ihmistä sairasti kroonista HBV-infektiota eri puolilla maailmaa.¹ HBV-infektio aiheuttaa lisääntyneen maksan dekompensoitumisen, kirroosin ja hepatosellulaarisen karsinoman (HCC) riskin, ja kuolleisuus on 0,5–1,2 miljoonaa kuolemaa ja 5–10 % maksansiirtotapausta maailmassa vuosittain.^{2,3} Ilman asianmukaista hoitoa, interventiota ja seurantaa diagnoosin jälkeen 5 vuoden kumulatiivinen kirroosin yleisyys on 8–20 %. Kun kirroosi on kehittynyt, hepatosellulaarisen karsinoman (HCC) vuosittainen riski on 2–5 %.⁴

HBV sisältää sirkulaarisen, osittain kaksijuosteisen DNA-genomin, jossa on noin 3 200 emäsparia, jotka koodittavat neljää osittain päällekkäistä avointa lukukehystä (ORF), jotka ilmentävät polymeraasia, pinnan, esiytimen/ytimen proteiineja ja X-proteiineja. Polymeraasin ORF liittyy kolmen muun ORF:n kanssa ja koodittaa viruksen tärkeää kahdentumisproteiinia, polymeraasia. Pinnan ORF ilmaisee kolme proteiinia, jotka ovat olennaisia viruksen morfogeneesille, viruksen pääsille hepatosyytteihin ja isännän immuunivasteen herättämiselle.⁵ HBV-genotyyppiä on 8 (A–H), ja ne löytyvät yleensä erillisistä maantieteellisistä sijainneista.

Kroonisen hepatiitti B -infektion dynaamisen luonteen vuoksi HBV:n DNA:n ja alaniiniaminotransferaasin (ALT) pitoisuuden seuranta on tärkeää.⁶ Suurimmalla osalla HBV-infektion saaneista henkilöistä, jotka saavat viruslääkehoitoa, tavoitteena on HBV:n DNA:n salpaaminen. Kvantitatiiviset nukleiinihappotestit, joilla on laaja lineaarinen alue, ovat tehokkaita apuvälineitä HBV:n DNA:n viruskuorman seurannassa hoidon aikana.

Menetelmän toimintaperiaate

Aptima HBV Quant -määritys on nukleiinihappojen *in vitro* -monistustesti, joka käyttää Panther-järjestelmässä reaaliaikaista transkriptiovälitteistä monistustekniikkaa (TMA) HBV:n DNA:n genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H kvantitointiin. Aptima HBV Quant -määritys kohdistuu polymeraasin ja pinnan geenien kahteen erittäin hyvin säilyneeseen alueeseen (mahdollisten mutaatioiden toleranssin lisäämiseksi). Analyysi on standardoitu WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen standardin mukaan (NIBSC-koodi: 10/264).

Aptima HBV Quant -määrityksessä on kolme päävaihetta, jotka kaikki tehdään yhdessä putkessa Panther-järjestelmässä: kohteen sieppaus, kohteen monistus TMA-tekniikalla ja monistustuotteiden (amplikoni) havaitseminen fluoresoivasti leimatuilla koettimilla.

Kohteen sieppauksen aikana virus-DNA eristetään näytteistä. Näytettä käsitellään puhdistusaineella, jotta viruksen kuori liukenee, proteiinit denaturoituvat ja viruksen genomin DNA vapautuu. Siepatut oligonukleotidit hybridisoituvat testinäytteen HBV:n DNA:n erittäin hyvin säilyneisiin alueisiin (mikäli läsnä). Hybridisoitu kohde sidotaan sen jälkeen magneettisiin mikrohiukkasiin, jotka erotetaan näytteestä magneettikentässä. Pesuvaiheissa ulkoiset ainesosat poistetaan reaktioputkesta.

Kohteen monistus tapahtuu TMA-tekniikalla, joka on transkriptiovälitteinen nukleiinihappojen monistusmenetelmä, jossa käytetään kahta entsyymiä, Moloneyn hiiren leukemiaviruksen (MMLV) käänteistranskriptaasia ja T7 RNA -polymeraasia. Käänteistranskriptaasia käytetään kohdesekvenssin DNA-kopion (joka sisältää promoottorisekvenssin T7 RNA -polymeraasia varten) luomiseen. T7 RNA -polymeraasi tuottaa useita RNA-amplikonin kopioita DNA-kopioalukkeesta. Aptima HBV Quant -määritys käyttää TMA-menetelmää monistamaan kaksi HBV-genomin aluetta (polymeraasigeeni ja pintageeni). Näiden alueiden monistus saavutetaan käyttämällä spesifisiä alukkeita, jotka on suunniteltu monistamaan HBV-genotyyppejä A, B, C, D, E, F, G ja H. Kahden kohdealueen lähestymistapa ja alukkeet, jotka kohdistuvat erittäin hyvin säilyneisiin alueisiin, varmistavat HBV:n DNA:n tarkan kvantitoinnin.

Havaitseminen tehdään käyttämällä yksijuosteisia, fluoresoivasti leimattuja nukleiinihappokoettimia, jotka ovat läsnä kohteen monistuksen aikana ja hybridisoituvat spesifisesti amplikoniin reaaliaikaisesti. Jokaisessa koettimessa on fluorofori ja sammuttaja. Kun koetin ei hybridisoidu amplikoniin, sammuttaja on fluoroforin läheisyydessä ja estää fluoresenssin. Kun fluoresoivasti leimattu koetin sitoutuu amplikoniin, sammutin on siirtynyt kauemmas pois päin fluoroforista, ja se lähettää signaalin tietyllä aallonpituudella, kun valonlähde virittää sen. Kun enemmän fluoresoivasti leimattuja koettimia hybridisoituu amplikoniin, ne synnyttävät suuremman fluoresoivan signaalin. Aika, joka fluoresoivalta signaalilta kuluu tietyn kynnsarvon saavuttamiseen, on suhteessa HBV:n alkupitoisuuteen. Jokaisessa reaktiossa on mukana sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli (IC) -aine, joka ilmaisee näytteen käsittelyssä, monistuksessa ja havaitsemisissa ilmenevän vaihtelun. Näytteen pitoisuus määritetään Panther-järjestelmä -ohjelmistolla käyttämällä kunkin reaktion HBV- ja IC-signaaleja ja vertaamalla niitä kalibrointitietoihin.

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP) on saatavissa eurooppalaisesta lääkinnällisten laitteiden tietokannasta (Eudamed), jossa se on yhdistetty laitetunnisteisiin (UDI-DI-perustunniste). Voit etsiä SSP:n Aptima HBV Quant -määritykselle yksilöllisen peruslaitetunnisteen (Basic Unique Device Identifier, BUDI) 54200455DIAGAPTHBVAF.

Varoitukset ja varotoimet

- A. *In vitro* -diagnostiseen käyttöön.
- B. Ammattikäyttöön.
- C. Epäkelpojen tulosten riskin vähentämiseksi käyttäjän on luettava huolella koko pakkausseloste ja *Panther- / Panther Fusion™ -järjestelmän käyttöopas* ennen määrityksen suorittamista.
- D. Kohteen vahvennereagenssi (TER) on syövyttävää. Katso tämän osion lopussa olevat käyttöturvallisuustiedotteen tiedot.

Laboratorioon liittyviä seikkoja

- E. HUOMIO: Tämän määrityksen kontrollit sisältävät ihmisen plasmaa. Plasma ei reagoi hepatiitti B -pinta-antigeenin (HBsAg), HCV:n vasta-aineiden, HIV-1:n ja HIV-2:n vasta-aineiden ja HIV-antigeenin kanssa, kun se testataan Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkehallinnon lisensoitujen testausmenettelyjen mukaisesti. Lisäksi plasma ei reagoi HBV:n DNA:n, HCV-RNA:n ja HIV-1:n RNA:n kanssa, kun se testataan myyntiluvan saaneilla nukleinihappotesteillä. Kaiken ihmisen verestä peräisin olevan materiaalin on katsottava olevan mahdollisesti tartuntavaarallista, ja siksi tällaista materiaalia on käsiteltävä yleisten varotoimien mukaisesti.^{7,8,9}
- F. Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HBV Quant -määrityksen käytöstä ja mahdollisesti infektioturvallisten materiaalien käsittelystä. Jos tapahtuu vuoto, on suoritettava heti desinfiointi asianmukaisten tutkimuspaikan menettelyohjeiden mukaisesti.
- G. Käytä vain toimitettuja tai määritettyjä kertakäyttöisiä laboratoriotarvikkeita.
- H. Käytä tavallisia laboratoriotarvikkeita koskevia varotoimia. Älä koskaan pipetoi suun avulla. Älä syö tai juo mitään tai tupakoi määritetyillä työskentelyalueilla. Käytä kertakäyttöisiä, puuterittomia käsineitä, silmäsuojaimia ja laboratoriotakkeja näytteiden ja pakkauksen reagenssien käsittelyn aikana. Pese kädet perusteellisesti näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn jälkeen.
- I. Työskentelypinnat, pipetit ja muut laitteet on desinfioitava säännöllisesti 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella.
- J. Hävitä kaikki materiaalit, jotka ovat olleet kosketuksissa näytteisiin ja reagensseihin, paikallisten ja kansallisten asetusten mukaisesti.^{7,8,9,10} Puhdista ja desinfioi kaikki työskentelypinnat huolellisesti.
- K. Kontrollit sisältävät natriumatsidia säilöntäaineena. Älä käytä metalliputkea reagenssin siirtoon. Jos natriumatsidiyhdisteitä sisältävät liuokset hävitetään viemäristöön, ne on laimennettava ja huuhdeltava runsaalla määrällä juoksevaa vettä. Näitä varotoimia suositellaan, jottei metalliputkiin kerry jäämiä, joista voi kehittyä räjähdysvaarallisia.
- L. Molekyyllilaboratorioiden hyvät peruskäytännöt sisältävät ympäristön valvonnan. Laboratorion ympäristön valvontaan suositellaan seuraavaa menettelytapaa:
 - 1. Hanki puuvillakärkinen vanutikku ja liitä se Aptima-näytealiquottiin (SAT).
 - 2. Merkitse jokainen SAT-putki asianmukaisesti.
 - 3. Täytä jokainen SAT-putki 1 mL:lla Aptima-näytteenlaimenninta.
 - 4. Kostuta vanutikku kevyesti nukleasittomalla deionisoidulla vedellä pintanäytteiden keruuta varten.

5. Hankaa kohdepinta ylhäältä alaspäin suuntautuvalla liikkeellä. Pyöritä tikkua noin puoli kierrosta kohdepinnan hankaamisen aikana.
6. Aseta vanutikkunäyte heti näyteputkeen ja pyöritä vanutikkua varoen laimennusaineessa mahdollisten vanuun tarttuneiden materiaalien poissaamiseksi siitä. Paina vanutikku siirtoputken kylkeen ottaaksesi mahdollisimman paljon nestettä. Heitä vanutikku pois ja sulje putki korkilla.
7. Toista vaiheet jäljellä oleville vanutikkunäytteille.
8. Testaa vanutikku molekyylimäärityksellä.

Näytteeseen liittyviä seikkoja

- M. Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Noudata yleisiä varotoimia^{7,8,9} tämän määrityksen suorittamisen aikana. Oikeanlaiset käsittely- ja hävitysmenetelmät on määritettävä soveltuvien paikallisten määräysten mukaisesti.¹⁰ Tämän määritysmenetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima HBV Quant -määrityksen käyttöön ja tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyyn.
- N. Pidä huolta, että näytteen kuljetuksen aikana säilytysolosuhteet ovat oikeanlaiset, jotta näyte säilyy kunnossa. Näytteen säilyvyyttä muissa kuin suositelluissa toimitusolosuhteissa ei ole arvioitu.
- O. Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota näytteiden irrottamisen tai putkien avaamisen aikana. Näytteet voivat sisältää erittäin suuria eliöpitoisuuksia. Varmista, että näytesäiliöt eivät koske toisiinsa, ja hävitä käytetyt materiaalit viemättä niitä avointen säiliöiden yli. Vaihda käsineet, jos ne koskevat näytteeseen.

Määritykseen liittyviä seikkoja

- P. Älä käytä reagenssipakkausta, kalibraattoria tai kontrolleja niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Q. Älä vaihda, sekoita tai yhdistä määritysreagensseja pakkauksista, joiden pääeränumerot eivät ole samoja. Määritysnesteillä voi olla eri eränumerot. Kontrolleilla ja kalibraattorilla voi olla eri eränumerot.
- R. Vältä mikrobien ja nukleaaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.
- S. Sulje kaikki määritysreagenssit ja säilytä niitä määritetyissä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen määritysreagenssien käyttö voi vaikuttaa määrityksen suorittamiseen. Lisätietoja on kohdissa *Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset* ja *Panther-järjestelmän testausmenetelmä*.
- T. Älä yhdistä mitään määritysreagensseja tai -nesteitä ilman erillistä ohjetta. Älä täytä vajaita reagenssi- tai nestepulloja. Panther-järjestelmä varmistaa reagenssien määrät.
- U. Varo kohteen vahvennereagessin (Target Enhancer Reagent, TER) joutumista iholle, silmiin ja limakalvoille. Pese vedellä alue, jolle tätä reagenssia on joutunut. Jos reagenssia läikkyi, laimenna vedellä ja noudata asianmukaisia tutkimuspaikan menettelyohjeita.
- V. Joillain tämän pakkauksen reagensseilla on vaaramerkintä.

Huomautus: Vaarailmoitustiedot vastaavat EU:n käyttöturvallisuustiedotteiden (SDS) luokituksia. Aluekohtaisia vaaraviestintätietoja on kohdan Safety Data Sheet Library (käyttöturvallisuustiedotekirjasto) aluekohtaisessa käyttöturvallisuustiedotteessa, osoite www.hologicsds.com. Lisätietoja symboleista on symbolien selitteessä osoitteessa <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Pohjois-Amerikan vaaratiedot	
	HBV VL -pakkauksen kontrollit <i>Ihmisen seerumi / ihmisen plasma 95–100 %</i> <i>Natriumatsidi < 1 %</i> — —
	Kohteen vahvennereagenssi <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10 %</i> — — VAARA H302 – Haitallista nieltynä. H314 – Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. P264 – Pese kasvat, kädet ja näkyvissä oleva iho huolellisesti käsittelyn jälkeen. P270 – Syöminen, juominen ja tupakointi kielletty kemikaalia käytettäessä. P330 – Huuhdo suu. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa. P260 – Älä hengitä pölyä/savua/kaasua/sumua/höyryä/suihketta. P280 – Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta. P301 + P330 + P331 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Huuhdo suu. Ei saa oksennuttaa. P303 + P361 + P353 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOILLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo/suihkuta iho vedellä. P304 + P340 – JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. P305 + P351 + P338 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. P321 – Erityishoitoa tarvitaan (katso lisäensiapuohjeita pakkauksen merkinnöissä). P363 – Pese saastunut vaatetus ennen uudelleenkäyttöä. P405 – Varastoi lukitussa tilassa. P301 + P317 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Hakeudu lääkäriin. P316 – Hakeudu välittömästi ensiapuun.
EU:n vaaratiedot	
 	Monistusreagenssi <i>Magnesium Chloride 60–65 %</i> — — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.
	Entsyymireagenssi <i>HEPES 1–5 %</i> <i>Triton X-100 1–5 %</i> — — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.

—	Entsyymien sekoitusliuos <i>Glyseroli 20–25 %</i> <i>Triton X-100 5–10 %</i> <i>HEPES 1–5 %</i> — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.
—	Promoottorireagenssi <i>Magnesium Chloride 60–65 %</i> — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.
—	Kohteen poimintareagenssi <i>HEPES 15–20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i> — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.
—	HBV VL -pakkauksen kalibraattorit <i>HEPES 15–20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i> — H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyyn jätteenkäsittelylaitokseen.
  	HBV VL -pakkauksen kontrollit <i>Ihmisen seerumi / ihmisen plasma 95–100 %</i> <i>Natriumatsidi < 1 %</i> — VAARA H300 – Tappavaa nieltynä. H410 – Erittäin myrkyllistä vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P264 – Pese kasvot, kädet ja altistunut iho huolellisesti käsittelyn jälkeen. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P301 + P310 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin. P321 – Erityishoitoa tarvitaan (katso ensiapuohjeet pakkauksen merkinnöissä). P330 – Huuhdo suu. P391 – Valumat on kerättävä.

Kohteen vahvennereagenssi*Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10 %***VAARA**

H302 – Haitallista nieltynä.

H314 – Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.

P264 – Pese kasvat, kätet ja altistunut iho huolellisesti käsittelyn jälkeen.

P270 – Syöminen, juominen ja tupakointi kielletty kemikaalia käytettäessä.

P330 – Huuhdo suu.

P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteenkäsittelylaitoksessa.

P260 – Älä hengitä pölyä/savua/kaasua/sumua/höyryä/suihketta.

P280 – Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.

P301 + P330 + P331 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Huuhdo suu. Ei saa oksennuttaa.

P303 + P361 + P353 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo/suihkuta iho vedellä.

P304 + P340 – JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys.

P305 + P351 + P338 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

P310 – Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin.

P321 – Eriyishoitoa tarvitaan (katso lisäensiapuhjeita pakkauksen merkinnöissä).

P363 – Pese saastunut vaatetus ennen uudelleenkäyttöä.

P405 – Varastoi lukitussa tilassa.

Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset

- A. Seuraavassa taulukossa esitetään reagenssien, kontrollien ja kalibraattorin säilytysolosuhteet ja säilyvyys.

Reagenssi	Säilytys avaamattomana	Avattu pakkaus (käyttövalmiiksi saatettu)	
		Säilytys	Säilyvyys
qHBV-monistusreagenssi	2–8 °C		
qHBV-monistuksen sekoitusliuos	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää ^a
qHBV-entsyymireagenssi	2–8 °C		
qHBV-entsyymin sekoitusliuos	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää ^a
qHBV-promoottorireagenssi	2–8 °C		
qHBV-promoottorin sekoitusliuos	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää ^a
qHBV-kohteen sieppausreagenssi	2–8 °C	2–8 °C	30 päivää ^a
qHBV PCAL (positiivinen kalibraattori)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHBV NC CONTROL – (negatiivinen kontrolli)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHBV LPC CONTROL + (heikko positiivinen kontrolli)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHBV HPC CONTROL + (voimakas positiivinen kontrolli)	–15...–35 °C	15–30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qHBV-kohteen vahvennereagenssi	15–30 °C	15–30 °C	30 päivää ^a

^a Kun reagenssit poistetaan Panther-järjestelmästä, ne on palautettava heti asianmukaisiin säilytyslämpötiloihinsa.

- B. Hävitä kaikki käyttämättömät liuotetut reagenssit, kohteen sieppausreagenssi (Target Capture Reagent, TCR) ja kohteen vahvennereagenssi (Target Enhancer Reagent, TER) 30 päivän kuluttua tai kun pääerän viimeinen käyttöpäivä on umpeutunut, kumpi tulee ensin vastaan.
- C. Panther-järjestelmässä säilytettyjen reagenssien säilyvyys on 72 tuntia. Reagenssit voidaan lisätä Panther-järjestelmään enintään 8 kertaa. Panther-järjestelmä kirjaa lokiin jokaisen reagenssin lisäyskerran.
- D. Kalibraattorin sulattamisen jälkeen liuoksen on oltava kirkasta, eli se ei saa olla utuista eikä siinä saa olla sakkaa. Varmista, että sakka on liuennut. Älä käytä kalibraattoria, jos esiintyy hyytymiä, saostumista tai sameutta.
- E. Promoottorireagenssi ja liuotettu promoottorireagenssi ovat valonarkoja. Suojaa nämä reagenssit valolta säilytyksen ja käytön valmistelun aikana.
- F. qHBV-kohteen vahvennereagenssin lämpötilan täytyy olla 15–30 °C ennen käyttöä.

Näytteiden ottaminen ja säilyttäminen

Huomautus: Käsittele kaikkia näytteitä aivan kuin ne sisältäisivät mahdollisesti tartuntavaarallisia aineita. Käytä yleisiä varotoimia.

Huomautus: Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Hävitä esimerkiksi käytetyt materiaalit viemättä niitä avoimien putkien yli.

Huomautus: Vain muovisia toissijaisia putkia suositellaan näytteiden säilytykseen.

Seuraaviin lasi- tai muoviputkiin otettuja kokoverinäytteitä voidaan käyttää:

- Etyleenidiamiinitetraetikkahappoa (EDTA)- tai happositraattidekstroosi (ACD) -antikoagulantteja sisältävät putket
- Plasman valmisteluputket
- Seerumiputket
- Seerumin erotusputket.

Anna seerumin hytyä ennen seerumin lisäkäsittelyä.

A. Näytteenotto

Kokoverta voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa enintään 24 tuntia, ja plasma on erotettava sentrifugoimalla ensisijaisessa putkessa ennen käsittelyä. Erotta plasma tai seerumi punasoluista käytettävän putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Plasma tai seerumi voidaan testata Panther Systemissä ensisijaisessa putkessa tai siirtää toissijaiseen putkeen, kuten Aptima®-näytealikoottiputkeen. 500 µL:n reaktiutilavuuden saamiseksi seerumin tai plasman kuollut tilavuus ensisijaisissa näytteenottoputkissa on enintään 1 200 µL ja toissijaisissa putkissa 700 µL. Seuraavassa taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset.

Putki (koko ja tyyppi)	Kuollut tilavuus Pantherissa
Aptima-näytealikoottiputki (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm geelin kanssa	0,3 mL
16 x 100 mm geelin kanssa	0,7 mL

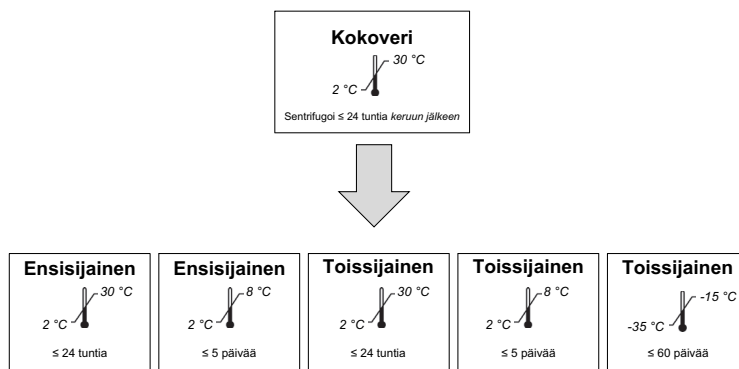
Jos plasmaa ja seerumia ei testata heti, niitä voidaan säilyttää alla esitettyjen ohjeiden mukaisesti. Jos plasma tai seerumi siirretään SAT-putkeen tai toissijaiseen putkeen, se voidaan jäädyyttää –20 °C:seen. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä. Älä jäädytä näytteitä EDTA:ta, ACD:tä tai seerumia sisältävissä ensisijaisissa näytteenottoputkissa.

B. Näytteen säilytysolosuhteet

1. EDTA- ja ACD-plasmanäytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- Ensijaisessa keräysputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- Ensijaisessa keräysputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- Toissijaisessa putkessa –20 °C:n lämpötilassa enintään 60 päivän ajan.

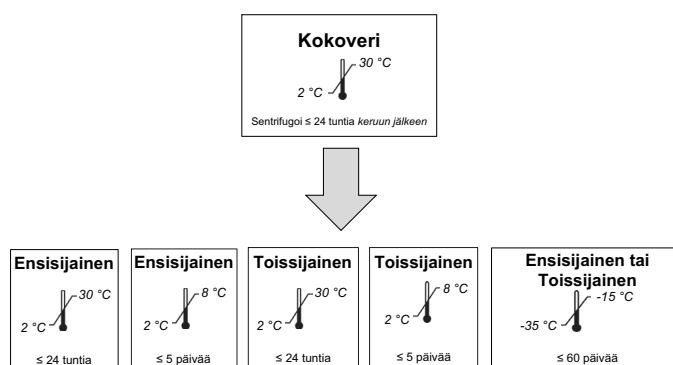


Kuva 1. EDTA/ACD-putkien säilytysolosuhteet

2. PPT-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- PPT:ssä tai toissijaisessa putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- PPT:ssä tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- PPT:ssä tai toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

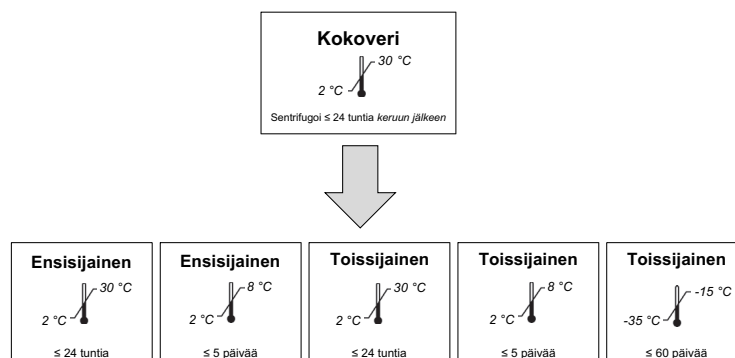


Kuva 2. PPT-putkien säilytysolosuhteet

3. Seerumiputkien näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- Seerumiputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- Seerumiputkessa tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan
- Toissijaisessa putkessa –20 °C:n lämpötilassa enintään 60 päivän ajan.

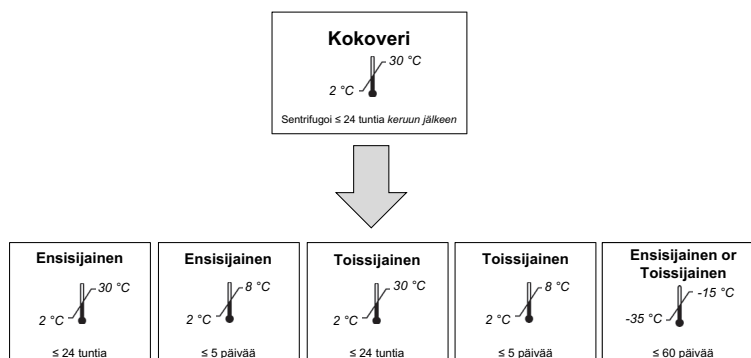


Kuva 3. Seerumiputkien säilytysolosuhteet

4. SST-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Seerumia voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- SST:ssä tai toissijaisessa putkessa 2–30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- SST:ssä tai toissijaisessa putkessa 2–8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- SST:ssä tai toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.



Kuva 4. SST-putkien säilytysolosuhteet

C. Pitkäaikainen säilytys jäädytettynä

Plasma- tai seeruminäytteitä voidaan säilyttää –70 °C:ssa enintään 60 päivän ajan SAT-putkissa.

D. Plasma- ja seeruminäytteiden laimentaminen

Plasma- ja seeruminäytteet voidaan laimentaa SAT-putkessa tai toissijaisessa putkessa Panther-järjestelmässä testausta varten. Katso lisätietoja alta kohdasta *Panther-järjestelmän testausmenetelmä*, vaihe E.5.

Huomautus: Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen. Älä pakasta laimennettua näytettä.

Panther-järjestelmässä säilytetyt näytteet

Näytteet voidaan jättää Panther-järjestelmään ilman korkkia enintään 8 tunnin ajaksi. Näytteet voidaan poistaa Panther-järjestelmästä ja testata, kunhan kokonaissäilytysaika järjestelmässä ei ylitä 8 tuntia, ennen kuin Panther-järjestelmä pipetoi näytteen.

Näytteen siirto

Pidä näytteen säilytysolosuhteet kohdassa *Näytteiden ottaminen ja säilyttäminen* kuvattuina.

Huomautus: *Näytteet on kuljetettava soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja paikallisten siirtosäännösten mukaisesti.*

Panther-järjestelmä

Aptima HBV Quant Assay -analyysin reagenssit luetellaan alla Panther Systemiä varten. Reagenssin yksilöintimerkinnot luetellaan myös reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Aptima HBV Quant -määrityspakkaus, 100 testiä (tuotenro Nro PRD-03424)
(1 määrityslaatikko, 1 kalibraattoripakkaus, 1 kontrollipakkaus ja 1 kohteen vahvennereagenssilaatikko)

Kalibraattorit ja kontrollit voidaan tilata erikseen. Katso yksittäiset luettelonumerot alta.

Aptima HBV Quant -määrityslaatikko (säilytä 2–8 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
A	qHBV-monistusreagenssi <i>Ei-infektoivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i>	1 injektiopullo
E	qHBV-entsyymireagenssi <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattuina HEPES-puskuroidussa liuoksessa.</i>	1 injektiopullo
PRO	qHBV-promoottorireagenssi <i>Ei-infektoivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i>	1 injektiopullo
AR	qHBV-monistuksen sekoitusliuos <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHBV-entsyymin sekoitusliuos <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää pinta-aktiivista ainetta ja glyserolia.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHBV-promoottorin sekoitusliuos <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHBV-kohteen sieppausreagenssi <i>Nukleiinihapot puskuroidussa suolaliuoksessa, joka sisältää kiinteän faasin ei-infektoivia nukleiinihappoja ja sisäistä kalibraattoria.</i>	1 x 72,0 mL
	Sekoituskaulukset	3
	Pääerän viivakoodiarkki	1 arkki

Aptima HBV Quant -kalibraattoripakkaus (tuotenro Nro PRD-03425) (säilytä lämpötilassa -15 – -35 °C vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
PCAL	Positiivinen qHBV-kalibraattori <i>Plasmidi-DNA puskuroidussa liuoksessa</i>	5 x 2,5 mL
	Kalibraattorin viivakooditarra	—

Aptima HBV Quant Controls Kit (tuotenro Nro PRD-03426)
(säilytä lämpötilassa -15 – -35 °C vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
NC	qHBV-negatiivinen kontrolli <i>HBV-negatiivinen defibrinoitu ihmisen plasma, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosentista natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	qHBV:n alarajan positiivinen kontrolli <i>Inaktivoitu HBV-positiivinen plasma defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosentista natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	qHBV:n ylärajan positiivinen kontrolli <i>Inaktivoitu HBV-positiivinen plasma defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2-prosentista natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 mL
	Kontrollin viivakooditarra	—

Aptima HBV Quant -kohteen vahvennereagenssin laatikko
(säilytä 15–30°C:ssa vastaanoton jälkeen)

Symboli	Komponentti	Määrä
TER	qHBV-kohteen vahvennereagenssi <i>Litiumhydroksidin väkevöity liuos</i>	1 x 46,0 mL

Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen

Huomautus: Hologicilta saatavissa oleville materiaaleille on annettu tuotenumerot, ellei toisin ole määritetty.

Materiaali	Tuotenro Nro
Panther™-järjestelmä	303095
Panther Fusion™ -järjestelmä	PRD-04172
Panther™-järjestelmä, jatkuva neste ja jäte (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HBV Quant -kalibraattoripakkaus	PRD-03425
Aptima® HBV Quant -kontrollipakkaus	PRD-03426
Panther-ajosarja reaaliaikaista analyysiä varten (vain reaaliaikaiset analyysit)	PRD-03455 (5 000 testiä)
Aptima®-määritysnestepakkaus (tunnetaan myös Yleisnestesarja-nimellä) (sisältää Aptima®-pesuliuosta, Aptima®-deaktivointinesteen puskuria ja Aptima®-öljyreagenssia)	303014 (1 000 testiä)
Moniputkiyksiköt (MTU:t)	104772-02
Panther™-jätepuskipakkaus	902731
Panther™-jäteastian kansi	504405
Tai Panther™-järjestelmän ajopakkaus (kun suoritetaan ei-reaaliaikaisia TMA-määrityksiä rinnan reaaliaikaisten TMA-määritysten kanssa) sisältää moniputkiyksiköitä, jätetusseja, jäteastian kansi ja määritysnesteitä	303096 (5 000 testiä)

Materiaali	Tuotenro Nro
Kärjet, 1 000 µL, johtavia, nesteen tunnustavia	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Kaikki tuotteet eivät ole saatavina kaikilla alueilla. Pyydä oman alueesi tiedot paikalliselta edustajalta.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Valkaisuaine, 5–8,25-prosenttinen (0,7–1,16 M) natriumhypokloriittiliuos	—
Kertakäyttöiset puuterittomat käsiin	—
Puhkaisemattomat vaihtokorkit	103036A
Reagenssin vaihtokorkit	
<i>Monistus-, entsyymi-, promootorireagenssien sekoituspullot</i>	CL0041 (100 korkkia)
<i>TCR-pullo</i>	CL0040 (100 korkkia)
<i>TER-pullo</i>	501604 (100 korkkia)
Muovitaustaiset laboratoriopöydän suojukset	—
Nukkaamattomat liinat	—
Pipetti	—
Kärjet	—
Ensisijaisen keräysputken vaihtoehdot:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Sentrifugi	—
Vortex-sekoitin	—

Valinnaiset materiaalit

Materiaali	Tuotenro Nro
Toissijaisen putken vaihtoehdot:	
<i>12 mm x 75 mm</i>	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
<i>Aptima®-näytealikoottiputket (SAT) (100 kpl)</i>	FAB-18184
Kuljetusputken korkki (100 kpl:n pakkaus) <i>korkki SAT-putkea varten</i>	504415
Aptima®-näytteenlaimennin	PRD-03003
Aptima®-näytteenlaimenninpakkaus <i>sisältää näytteenlaimentimen, 100 SAT:tä ja 100 korkkia</i>	PRD-03478
Siirtopipetit	—
Vanukärkiset puikot	—
Putkiravistelijä	PRD-03488

Panther-järjestelmän testausmenetelmä

Huomautus: Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaassa on lisätietoja toimenpiteistä.

A. Työskentelyalueen valmistelu

1. Puhdista työskentelypinnat, joilla reagenssit valmistellaan. Pyyhi työskentelypinnat 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriittiliuoksen koskea pintoihin vähintään 1 minuutin ajan ja huuhtelee deionisoidulla (DI) vedellä. Älä anna natriumhypokloriittiliuoksen kuivua. Peitä pöytäpinta puhtaalla, muovitaustaisilla imukykyisillä työpöytäpeitteillä.
2. Puhdista erillinen työskentelypinta, jossa näytteet valmistellaan. Käytä edellä kuvattua menettelyä (vaihe A.1).
3. Puhdista pipetoijat. Käytä edellä kuvattua puhdistusmenettelyä (vaihe A.1).

B. Kalibraattorin ja kontrollien valmistelu

Anna kalibraattorin ja kontrollien lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä toimimalla seuraavasti:

1. Poista kalibraattori ja kontrollit säilytyksestä (–15...–35 °C) ja tuo ne 15–30 °C:n lämpötilaan. Käännä jokaista putkea koko sulatusprosessin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

Vaihtoehto. Kalibraattori- ja kontrolliputket voidaan asettaa putkiravistelijaan, jossa ne sekoitetaan kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

Huomautus: Vältä liian voimakasta vaahdon muodostusta kääntäessä kalibraattoria ja kontrolleja. Vahto estää Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.

2. Kun putken sisältö on sulanut, kuivaa putken ulkopinta puhtaalla, kuivalla, kertakäyttöisellä pyyhkeellä.
3. Älä avaa putkia tässä vaiheessa, jotta ne eivät kontaminoidu.

C. Reagenssin sekoitus / uuden pakkauksen valmistelu

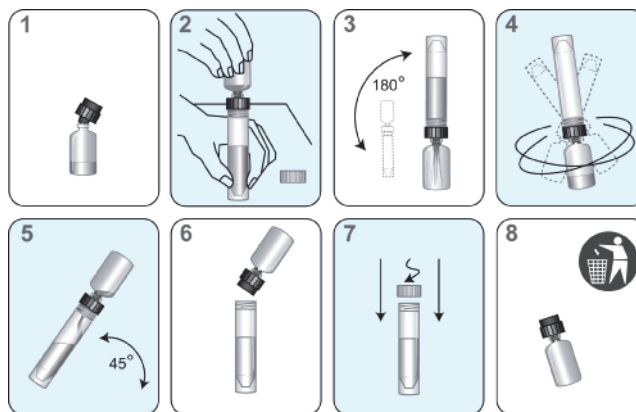
Huomautus: Reagenssien sekoitus eli käyttövalmiiksi saattaminen on tehtävä ennen minkään töiden aloittamista Panther-järjestelmässä.

1. Toimi seuraavasti kohteen sieppausreagenssin (TCR) valmistelemista varten:
 - a. Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C). Tarkista TCR-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
 - b. Ravistele TCR-pulloa heti voimakkaasti 10 kertaa. Anna TCR-pullon jäädä 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi. Ravistele ja kääntele tänä aikana TCR-pulloa vähintään 10 minuutin välein.

Vaihtoehto. TCR-pullo voidaan valmistella putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista TCR säilytyksestä (2–8 °C) ja ravistele sitä heti voimakkaasti 10 kertaa. Aseta TCR-pullo putkiravistelijaan ja jätä TCR 15–30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi.
 - c. Varmista, että kaikki sakka on liuoksessa ja magneettihiukkaset on suspendoitu ennen käyttöä.
2. Tee monistus-, entsyymi- ja promootorireagenssien sekoitus seuraavalla tavalla:
 - a. Poista kylmäkuivatut reagenssit ja vastaavat sekoitusliuokset säilytyksestä (2–8 °C). Käytä jokaista sekoitusliuosta oman kylmäkuivatun reagenssin kanssa.
 - b. Varmista, että sekoitusliuoksella ja kylmäkuivatulla reagenssilla on täsmäivät tarran värit. Tarkista pääerän viivakoodiarkin eränumerot ja varmista, että käytät yhdessä asianmukaisia reagensseja.

- i. Avaa kylmäkuivattu reagenssipullo poistamalla metallitiiviste ja kumitulppa.
 - ii. Työnnä sekoituskauluksen (musta) urallinen pää injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 1).
 - iii. Avaa täsmävä sekoitusliuospullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetyle työskentelypinnalle.
 - iv. Aseta sekoitusliuospullo vakaalle pinnalle (eli pöydälle). Käännä sen jälkeen kylmäkuivattua reagenssia sisältävä pullo sekoitusliuospullon päälle ja kiinnitä kaulus lujasti sekoitusliuospulloon (Kuva 5, vaihe 2).
 - v. Käännä kootut pullot hitaasti (injektiopullo kiinnitettynä liuospulloon), jotta liuos pääsee valumaan lasiseen injektiopulloon (Kuva 5, vaihe 3).
 - vi. Ota kootut pullot ja ravistele koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan (Kuva 5, vaihe 4).
 - vii. Odota vähintään 30 minuuttia, jotta kylmäkuivattu reagenssi valuu liuokseen.
 - viii. Kun kylmäkuivattu reagenssi on valunut liuokseen, sekoita koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan ja ravistele sitten liuosta kevyesti lasisessa injektiopullossa edestakaisin, jotta se sekoittuu kunnolla.
- c. Kallista koottuja pulloja hitaasti uudelleen, jotta kaikki liuos pääsee valumaan takaisin sekoitusliuospulloon (Kuva 5 vaihe 5).
 - d. Ota sekoituskaulus ja lasinen injektiopullo varovasti pois (Kuva 5, vaihe 6).
 - e. Laita korkki takaisin pulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja sekoituspäivä etikettiin (Kuva 5, vaihe 7).
 - f. Hävitä sekoituskaulus ja lasipullo (Kuva 5, vaihe 8).

Varoitus: Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä liuottaessasi reagensseja. Vaahto estää Panther Systemin pinnantason havainnoinnin toiminnan.



Kuva 5. Reagenssin sekoitusprosessi

3. Ota qHBV-kohteen vahvennereagenssi pois säilytyksestä (15–30 °C). Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja avaamispäivä tarraan. Tarkista TER-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
- D. Reagenssin valmistus aiemmin valmistettuja reagensseja varten
1. Ota aiemmin valmistetut reagenssit pois säilytyksestä (2–8 °C). Ennalta valmistettujen monistus-, entsyymi- ja promootorireagenssien ja TCR:n lämpötilan on oltava 15–30 °C ennen määrittelyn aloittamista.
 2. Poista TER säilytyksestä (15–30 °C).
 3. Ennalta valmistetun TCR:n tapauksessa suorita edellä kuvattu vaihe C.1 ennen järjestelmään lisäämistä.

4. Sekoita ja kääntelee monistus-, entsyymi- ja promootorireagensseja, jotta ne sekoittuvat kunnolla, ennen kuin lisäät ne järjestelmään. Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä käännellessäsi reagensseja.

Vaihtoehto: Aiemmin valmistetut reagenssit voidaan valmistella putkiravistelijassa noudattamalla näitä ohjeita: Ota reagenssit säilytyksestä (2–8 °C). Aseta reagenssit putkiravistelijaan ja jätä lämpiämään 15–30 °C:n lämpötilaan vähintään 30 minuutin ajaksi.

5. Älä täytä vajaita reagenssipulloja. Panther-järjestelmä tunnistaa ja hylkää liian täydet pullot.

E. Näytteiden käsittely

1. Varmista, että ensisijaisissa putkissa prosessoidut näytteet tai toissijaisissa putkissa olevat laimentamattomat plasmanäytteet on säilytetty asianmukaisesti kohdan *Näytteenotto* ohjeiden mukaan.
2. Varmista, että pakastetut näytteet on sulatettu kunnolla. Sekoita sulatettuja näytteitä vortex-sekoittimella 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
3. Anna näytteiden lämpötilan nousta 15–30°C:seen ennen käsittelyä. Katso *Panther-järjestelmässä säilytetyt näytteet* -kohdasta lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
4. Varmista, että kussakin ensisijaisessa keräysputkessa on enintään 1200 µL näytettä tai kussakin SAT:ssä vähintään 700 µL näytettä. Kohdan *Näytteenotto* taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset. Jos näytteen laimennus on tarpeen, katso lisätietoja alta vaiheesta E.5.
5. Laimenna plasma- tai seeruminäyte 1:3 SAT:ssä tai 1:100 toissijaisessa putkessa.

Näyte voidaan laimentaa toissijaisessa putkessa testattavaksi Panther Systemissä.

Huomautus: Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen.

a. Pienien näytteiden laimentaminen

Näytteiden tilavuus voidaan kasvattaa pienimpään sallittuun tilavuuteen (700 µL) Aptima-näytteenlaimentimella. Näytteet, joiden tilavuus on vähintään 240 µL, voidaan laimentaa kahteen osaan näytteenlaimenninta (1:3) seuraavasti:

- i. Laita 240 µL näytettä SAT:hen.
- ii. Lisää 480 µL Aptima-näytteenlaimenninta.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:3 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:3-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto raportoi automaattisesti laimentamattoman tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

b. Väkevien näytteiden laimentaminen

Jos näytteen tulos ylittää kvantitoinnin ylärajan (ULoQ), se voidaan laimentaa 99 osalla Aptima-näytteenlaimenninta (1:100) seuraavasti:

- i. Aseta 30 µL näytettä SAT-putkeen tai toissijaiseen putkeen.
- ii. Lisää 2970 µL Aptima-näytteenlaimenninta.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:100 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:100-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto raportoi automaattisesti laimentamattoman tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

Huomautus: Laimennetuille näytteille, joiden sekoittamattomat pitoisuudet ylittävät ULoQ-arvon, tulokset ilmoitetaan tieteellisellä merkintätavalla.

6. Sentrifugoi jokaista näytettä 1 000–3 000 G:n kiihtyvyydellä 10 minuutin ajan juuri ennen näytteiden asettamista näytetelineeseen. Älä poista korkkeja. Putkessa olevat kuplat estävät Panther-järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan. Katso alta kohdasta *Järjestelmän valmistelu*, vaihe F.2 lisätietoja telineeseen asettamisesta ja korkkien poistamisesta.

F. Järjestelmän valmistelu

1. Valmistele järjestelmä *Panther-/Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaan* ja *Menetelmää koskevia huomautuksia* -kohdan ohjeiden mukaisesti. Varmista, että käytetyt reagenssitelineet ja TCR-sovittimet ovat sopivankokoisia.
2. Lataa näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle näyteputkelle (näyte ja tarvittaessa kalibraattori ja kontrollit):
 - a. Avaa yhden näyteputken korkkia, mutta älä irrota sitä vielä.

Huomautus: Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota. Avaa näytteiden korkkeja varovasti.

- b. Lataa näyteputki näytetelineeseen.
- c. Toista vaiheet 2.a ja 2.b kaikille jäljellä oleville näytteille.
- d. Kun näytteet on ladattu näytetelineeseen, poista jokainen näyteputken korkki ja laita ne yhteen näytetelineeseen. Kontaminaation välttämiseksi älä vie korkkia minkään muun näytetelineen tai näyteputken yli.
- e. Käytä tarvittaessa uutta, kertakäyttöistä siirtopipettiä mahdollisten kuplien tai vaahdon poistamiseen.
- f. Kun viimeinen korkki on poistettu, lataa näyteteline näyteosastoon.

Huomautus: Jos ajat samaan aikaan muita määrittäyksiä ja näytetyyppäjä, kiinnitä näytetidikke ennen näytetelineen asettamista näytesyvennykseen.

- g. Toista vaiheet 2.a – 2.f seuraavalle näytetelineelle.

Menetelmää koskevia huomautuksia

A. Kalibraattori ja kontrollit

1. qHBV-positiivinen kalibraattori, qHBV:n alarajan positiivisen kontrollin, qHBV:n ylärajan positiivisen kontrollin ja qHBV-negatiivisten kontrollien putket voidaan asettaa mihin tahansa paikkaan näytetelineeseen ja mille tahansa Panther-järjestelmän näytelokeron kaistalle. Näytteiden pipetointi aloitetaan, kun toinen seuraavista kahdesta ehdosta täyttyy:
 - a. Kalibraattori ja kontrollit ovat tällä hetkellä järjestelmän käsiteltävinä.
 - b. Kalibraattorin ja kontrollien kelvolliset tulokset rekisteröidään järjestelmään.
2. Kun kalibraattori- ja kontrolliputket on pipetoitu ja niitä käsitellään Aptima HBV Quant -määritysreagenssipakkauksella, näytteitä voidaan testata asiaankuuluvien, sekoitettujen pakkausten kanssa enintään 24 tunnin ajan, **paitsi jos**:
 - a. Kalibraattorin tai kontrollin tulokset eivät ole kelvollisia
 - b. Asiaankuuluva -analyysireagenssisarja on poistettu järjestelmästä.

- c. Asiaankuuluvan määritysreagenssipakkauksen säilyvyysaika on ylittynyt.
 - 3. Kalibraattoriputkea ja jokaista kontrolliputkea voidaan käyttää vain kerran. Jos putkea yritetään käyttää useammin kuin kerran, seurauksena voi olla käsittelyvirheitä.
- B. Käsineiden puuteri
- Kuten kaikkien reagenssijärjestelmien tapauksessa, tiettyjen käsineiden liian suuret puuterimäärät voivat aiheuttaa avattujen putkien kontaminoitumisen. Siksi suosittelemme puuterittomia käsineitä.

Laadunvalvonta

Käyttäjä saattaa hylätä ajon tai näytteen tuloksen, jos määrittelyn suorituksen aikana ilmenee teknisiä, käyttäjään tai laitteeseen liittyviä ongelmia, jotka on dokumentoitava. Tässä tapauksessa näytteet on testattava uudelleen.

Määrittelyn kalibrointi

Määrittely on kalibroitava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Yksi positiivinen kalibraattori ajetaan kolmesti joka kerta, kun reagenssipakkaus asetetaan Panther-järjestelmään. Kun kalibrointi on tehty, se on voimassa enintään 24 tunnin ajan. Panther-järjestelmän ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kalibrointi on tarpeen. Käyttäjä lukee jokaisen reagenssipakkauksen mukana toimitetusta pääerän viivakoodiarkista kalibroitikertoimen.

Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kalibraattorin hyväksyntäehdot. Jos alle kaksi kalibraattorin ajoista on kelvollisia, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Hylätyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

Negatiiviset ja positiiviset kontrollit

Joukko määrittelykontrolleja on testattava kelvollisten tulosten saamiseksi. Negatiivisen kontrollin, alarajan positiivisen kontrollin ja ylärajan positiivisen kontrollin yksi ajo on testattava joka kerta, kun reagenssipakkaus asetetaan Panther-järjestelmään. Kun testaus on tehty, kontrolleja voi käyttää enintään 24 tunnin ajan. Panther-järjestelmän ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kontrolleja tarvitaan.

Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kontrollien hyväksyntäehdot. Jotta tulokset ovat kelvollisia, negatiivisen kontrollin on annettava "Ei havaittu" -tulos ja positiivisen kontrollin tuloksen on oltava ennalta määritettyjen parametrien rajoissa (nimellinen LPC-tavoite: $2,7 \log_{10}$ IU/mL, nimellinen HPC-tavoite: $4,6 \log_{10}$ IU/mL). Jos jokin kontrolleista saa epäkelvollisen tuloksen, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Hylätyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli

Jokainen näyte sisältää sisäistä kalibraattoria / sisäistä kontrollia (Internal Control, IC). Käsittelyn aikana Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti IC-hyväksyntäehdot. Jos IC-tulos on epäkelpo, näytteen tulos hylätään. Jokainen epäkelvon IC-tuloksen saanut näyte on testattava uudelleen, jotta sille saadaan kelvollinen tulos.

Panther-järjestelmän ohjelmisto tarkistaa suoritettut käsittelyt tarkasti, kun toimenpiteet suoritetaan noudattaen tässä pakkausselosteessa ja *Panther-/Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaassa* annettuja ohjeita.

Tulosten tulkinta

Panther-järjestelmä määrittää automaattisesti HBV-DNA-pitoisuuden näytteistä ja kontrolleista vertaamalla tuloksia kalibrintikäyrään. HBV:n DNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/mL ja $\log_{10}$ IU/mL. Taulukko 1 esittää tulosten tulkinnan. Jos laimennosvaihtoehtoa käytetään, Panther-järjestelmä laskee automaattisesti HBV:n DNA:n pitoisuuden sekoittamattomalle näytteelle kertomalla pitoisuustulokset laimennuskertoimella, ja laimennetut näytteet merkitään laimennetuiksi.

Huomautus: Laimennettujen näytteiden tapauksessa "Ei havaittu"- tai "< 10 havaittu" - ilmoitus voi aiheutua laimennettaessa näyte, jonka pitoisuus on yli mutta silti lähellä LoD (havaitsemisraja)- tai LLoQ (kvantitoinnin alaraja) -raja-arvoja. On suositeltavaa ottaa ja testata toinen sekoittamaton näyte, jos kvantitatiivista tulosta ei saada.

Taulukko 1: Tulosten tulkinta

Ilmoitettu Aptima HBV Quant -määrityksen tulos		Tulkinta
IU/mL	$\log_{10}$ IU/mL ^a	
Ei havaittu	Ei havaittu	HBV:n DNA:ta ei havaittu.
< 10 havaittu	< 1,00	HBV:n DNA havaitaan, mutta sen pitoisuus on alle LLoQ:n
10–1 000 000 000	1,00–9,00	HBV:n DNA:n pitoisuus on lineaarisella alueella 10–1 000 000 000 IU/mL
> 1 000 000 000	> 9,00	HBV:n DNA:n pitoisuus on yli ULoQ:n
Epäkelpo ^b	Epäkelpo ^b	Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen.

^a Arvo on lyhennetty kahteen desimaaliin.

^b Epäkelvot tulokset näytetään sinisellä fontilla.

Laimennetuille näytteille, joiden sekoittamattomat pitoisuudet ylittävät ULoQ-arvon, tulokset ilmoitetaan tieteellisellä merkintätavalla.

Hyväksymisperusteet kullekin Aptima HBV Quant -määrityksen kontrolleista esittää alla Taulukko 2.

Huomautus: Alla oleva talteensaantialue siirtyy kunkin tietyn erän määritetyn arvon perusteella. Katso kunkin kontrollilaatikon Kontrolliviivakoodiarkki-selosteessa mainittu määritetty pitoisuus.

Taulukko 2: Aptima HBV Quant -määrityksen kontrollien talteensaantialueen hyväksymisperusteet

Komponentti	Kelvollisten ajojen talteensaantialue
Negatiivinen kontrolli	–
Alarajan positiivinen kontrolli	+/- 0,55 $\log_{10}$ IU/mL
Ylärajan positiivinen kontrolli	+/- 0,5 $\log_{10}$ IU/mL

Rajoitukset

- A. Tätä määritystä saavat käyttää vain toimenpiteen suorittamiseen koulutetut henkilöt. Tässä pakkausselosteessa annettujen ohjeiden noudattamatta jättäminen saattaa aiheuttaa virheellisiä tuloksia.
- B. Luotettavia tuloksia saadaan vain, jos näytteenotto, kuljetus, säilytys ja prosessointi tehdään vaaditulla tavalla.

Analyttinen suorituskyky

Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia

Määrityksen havaitsemisraja määritetään siksi HBV:n DNA-pitoisuudeksi, joka havaitaan 95 %:n tai suuremmalla todennäköisyydellä CLSI EP17-A2:n mukaisesti.¹¹

LoD määritettiin testaamalla WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen DNA:n standardin (NIBSC 10/264, genotyyppi A) testisarjat laimennettuina HBV-negatiiviseen ihmisen EDTA-plasmaan ja -seerumiin. Jokaiselle laimennokselle testattiin 36 rinnakkaisnäytettä jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 108 rinnakkaisnäytettä laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin 95 %:n ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. LoD-arvot ovat seurausta reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Aptima HBV Quant -määrityksen LoD WHO:n 3. kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 4,8 IU/mL plasman osalta ja 5,9 IU/mL seerumin osalta.

Havaitsemisraja HBV-genotyyppien kesken

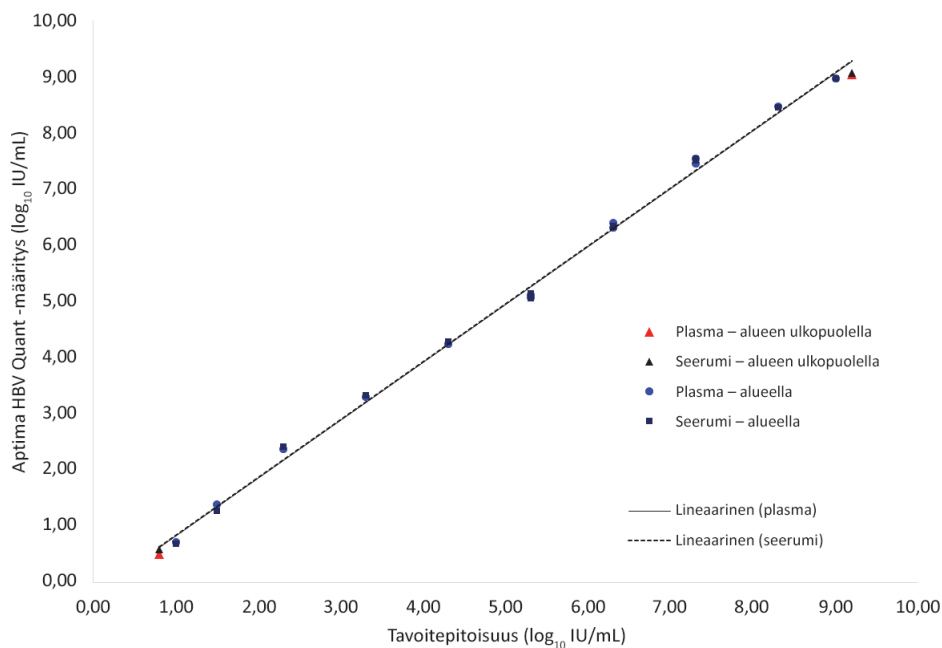
LoD määritettiin testaamalla genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H HBV-positiivisten näytteiden laimennoksia HBV-negatiivisessa ihmisen plasmassa ja seerumissa. Pitoisuudet määritettiin käyttämällä hyväksyttyä määritystä. Jokaiselle testisarjan jäsenelle testattiin vähintään 24 rinnakkaisnäytettä jokaisesta kahdesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 48 rinnakkaisnäytettä testisarjan jäsentä kohti. Probittianalyysi suoritettiin 95 %:n ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. LoD-arvot, jotka Taulukko 3 esittää, ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja.

Taulukko 3: Havaitsemisraja (95 % ennakoidusta havaitsemisrajasta) HBV-genotyyppien kesken käytettäessä klinisiä näytteitä

Genotyyppi	Pitoisuus (IU/mL)	
	Plasma	Seerumi
A	3,3	4,1
B	2,9	3,9
C	4,9	5,2
D	5,7	5,4
E	5,8	5,8
F	3,0	4,0
G	2,8	7,4
H	5,5	6,3

Lineaarinen alue

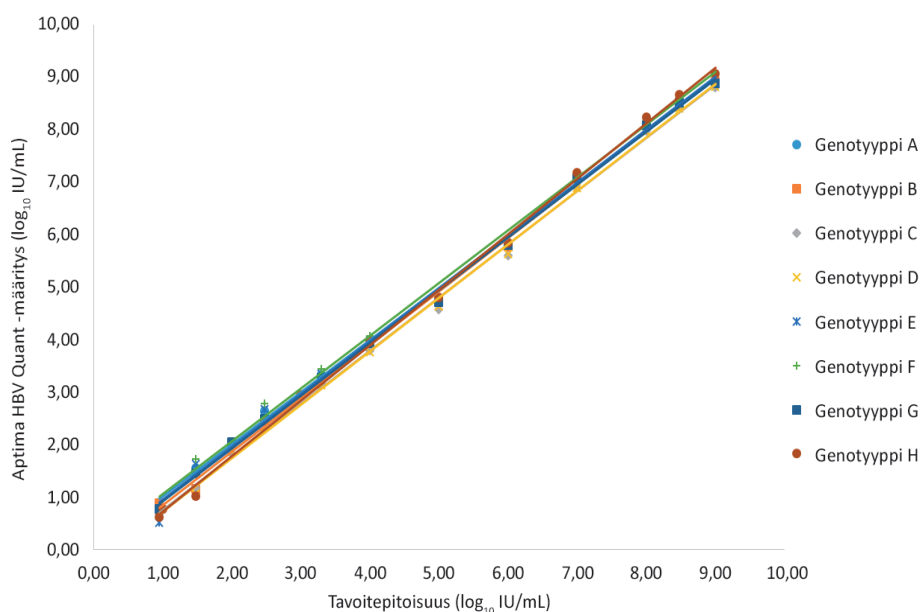
Lineaarinen alue määritettiin testaamalla testisarjat, jotka koostuivat HBV-genotyypin A viruksesta ($0,78 \log_{10} \text{ IU/mL}$ – $7,30 \log_{10} \text{ IU/mL}$) ja plasmidi-DNA:sta ($5,30 \log_{10} \text{ IU/mL}$ – $9,18 \log_{10} \text{ IU/mL}$) laimennettuna HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin CLSI EP06-A:n mukaisesti.¹² Aptima HBV Quant Assay -analyysi osoittautui lineaariseksi testatulla alueella, ja sen kvantitoinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) oli $9 \log_{10} \text{ IU/mL}$, kuten kohdasta Kuva 6 nähdään.



Kuva 6. Lineaarisuus plasmassa ja seerumissa

Lineaarisuus HBV-genotyyppien kesken

HBV-genotyyppien lineaarisuus määritettiin testaamalla yksittäiset kliiniset positiiviset näytteet genotyyppien A, E, F, G ja H osalta ja PEI 1st WHO -vertailutestisarjat (PEI 5086/08) genotyyppien B, C ja D osalta. Virusta käytettiin määritysalueen alaosalta ($4 \log_{10}$ IU/mL ja pienempi genotyypeille A-G, $3 \log_{10}$ IU/mL ja pienempi genotyyppille H). Plasmidi-DNA:ta käytettiin alueen yläosalle $2 \log_{10}$:n päällekkäisyydellä. Negatiiviseen ihmisen plasmaan tehdyt laimennokset testattiin kaikkien genotyyppien osalta. Lineaarisuus osoitettiin testatulla alueella kaikille testatuille genotyypeille, kuten Kuva 7 esittää.



Kuva 7. Lineaarinen alue ja lineaarisuus (plasma)

Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia

Kvantitoinnin alaraja määritellään alimmaksi pitoisuudeksi, jolla HBV:n DNA kvantitoidaan luotettavasti kokonaisvirheen rajoissa CLSI EP17-A2:n mukaisesti.¹¹ Kokonaisvirhe arvioitiin seuraavalla kahdella menetelmällä:

Analyysin kokonaisvirhe (Total Analytical Error, TAE) = poikkeama + 2 SD; ja kokonaisvirhe (Total Error, TE) = neliöjuuri(2) x 2 SD.

Mittausten tarkkuuden ja toistotarkkuuden varmistamista varten Aptima HBV Quant -määrityksen kokonaisvirheeksi määritettiin $1 \log_{10}$ IU/mL (eli LLoQ-rajalla kahden mittauksen välinen ero, joka on yli $1 \log_{10}$ IU/mL, on tilastollisesti merkitsevä).

LLoQ määritettiin testaamalla WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen DNA:n standardin (NIBSC 10/264, genotyyppi A) testisarjat laimennettuina HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin. Jokaista laimennosta testattiin 45 rinnakkaisnäytteenä jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 135 rinnakkaisnäytettä laimennosta kohti. Näiden kolmen reagenssierän tulokset esittää Taulukko 4 plasmalle ja vastaavasti Taulukko 5 seerumille. Tarkkuustavoitteen ($TE \leq 1 \log_{10}$ IU/mL ja $TAE \leq 1 \log_{10}$ IU/mL) > 95 %:n havaitsemisosuudella ja vähintään LoD-arvolla täyttävän alhaisimman pitoisuuden tulokset on varjostettu kummassakin taulukossa, ja Taulukko 6 esittää niiden yhteenvedon.

Laskettu LLoQ WHO:n 3. kansainvälisen hepatiitti B -viruksen standardille on 6 IU/mL (0,79 log₁₀ IU/mL) plasman osalta ja 8 IU/mL (0,88 log₁₀ IU/mL) seerumin osalta, ja ne perustuvat korkeimpaan kolmesta reagenssierästä CLSI EP17-A2:n mukaisesti laskettuun pitoisuuteen. LLoQ määritettiin genotyyppien kesken (ks. *Kvantitoinnin alaraja (LLoQ) HBV-genotyyppien kesken*). Nämä genotyyppitiedot määrittävät määrityksen kokonais-LLoQ:ksi 10 IU/mL.

Taulukko 4: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia plasmassa laimennetulle HBV:lle

Reagenssierä	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	KESKIHAJONTA (Log ₁₀ IU/mL)	Poikkeama (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TE (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TAE (Log ₁₀ IU/mL)
1	3	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	3	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	5	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71
2	6	0,76	0,26	0,09	0,73	0,60
	5	0,69	0,22	0,21	0,63	0,65
	6	0,77	0,25	0,18	0,70	0,68
3	6	0,79	0,31	0,05	0,88	0,68
	8	0,88	0,23	0,02	0,66	0,48
	9	0,96	0,23	0,00	0,66	0,47

SD = keskihajonta.

Testisarjan jäsenet, jotka täyttivät tarkkuustavoitteen (TE ≤ 1 ja TAE ≤ 1), joka oli > LoD, ja joiden havaitsemisosuus oli > 95 % reagenssierien 1, 2 ja 3 osalta, ovat varjostettuina.

Taulukko 5: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n 3. kansainvälistä standardia seerumissa laimennetulle HBV:lle

Reagenssierä	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	KESKIHAJONTA (Log ₁₀ IU/mL)	Poikkeama (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TE (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TAE (Log ₁₀ IU/mL)
1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	5	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	5	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73
2	5	0,70	0,29	0,14	0,82	0,72
	5	0,72	0,27	0,18	0,77	0,72
	6	0,75	0,24	0,20	0,68	0,68
3	8	0,88	0,29	0,04	0,83	0,63
	10	0,98	0,23	0,08	0,66	0,55
	11	1,02	0,28	0,07	0,78	0,62

SD = keskihajonta.

Testisarjan jäsenet, jotka täyttivät tarkkuustavoitteen (TE ≤ 1 ja TAE ≤ 1), joka oli > LoD, ja joiden havaitsemisosuus oli > 95 % reagenssierien 1, 2 ja 3 osalta, ovat varjostettuina.

Taulukko 6: Lasketun LLoQ:n yhteenveto käyttäen WHO:n 3. kansainvälistä HBV-standardia

Reagenssierä	Plasman LLoQ		Seerumin LLoQ	
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
1	5	0,70	4	0,65
2	5	0,69	5	0,72
3	6	0,79	8	0,88

Kvantitoinnin alaraja (LLoQ) HBV-genotyyppien kesken

LLoQ määritettiin testaamalla genotyyppien A, B, C, D, E, F, G ja H HBV-positiivisten näytteiden laimennoksia HBV-negatiivisessa ihmisen plasmassa ja seerumissa. Kliinisten näytteiden pitoisuuden määrittäminen tehtiin käyttämällä vertailumäärittäystä. Jokaiselle testisarjan jäsenelle testattiin yhteensä 36 rinnakkaisnäytettä jokaisesta kahdesta reagenssierästä, jolloin saatiin vähintään 72 rinnakkaisnäytettä testisarjan jäsentä kohti. Tarkkuustavoitteen ($TE \leq 1 \log_{10}$ IU/mL ja $TAE \leq 1 \log_{10}$ IU/mL) täyttävän alhaisimman havaitun pitoisuuden tulokset > 95 %:n havaitsemisosuudella kummallekin reagenssierälle esittää Taulukko 7 plasman osalta ja Taulukko 8 seerumin osalta. Taulukko 9 esittää yhteenvedon korkeimman havaitun pitoisuuden kunkin genotyypin reagenssierien keskuudessa. Genotyyppillä D seerumissa oli korkein LLoQ pitoisuudella 9 IU/mL ($0,96 \log_{10}$ IU/mL). Tämä tuki sitä, että määrittäksen kokonais-LLoQ on 10 IU/mL.

Taulukko 7: LLoQ:n määrittäminen HBV-genotyyppien kesken plasmasta

HBV-genotyyppi	Reagenssierä	Aptima HBV Quant ^a (IU/mL)	Aptima HBV Quant ^a ($\log_{10}$ IU/mL)	KESKIHAJONTA ($\log_{10}$ IU/mL)	Poikkeama ($\log_{10}$ IU/mL)	Laskettu TE ($\log_{10}$ IU/mL)	Laskettu TAE ($\log_{10}$ IU/mL)
A	1	6	0,74	0,24	0,10	0,67	0,58
	2	7	0,85	0,20	0,00	0,57	0,40
B	1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	2	6	0,75	0,25	0,10	0,70	0,59
C	1	4	0,61	0,21	0,35	0,60	0,77
	2	6	0,75	0,30	0,20	0,84	0,80
D	1	7	0,87	0,28	0,31	0,81	0,88
	2	8	0,91	0,30	0,26	0,86	0,87
E	1	8	0,88	0,32	0,29	0,89	0,92
	2	7	0,82	0,21	0,36	0,60	0,78
F	1	6	0,76	0,27	0,08	0,76	0,62
	2	7	0,86	0,30	0,01	0,84	0,60
G	1	4	0,59	0,21	0,25	0,60	0,68
	2	4	0,65	0,23	0,19	0,64	0,64
H	1	6	0,78	0,28	0,39	0,80	0,96
	2	7	0,83	0,27	0,34	0,78	0,89

SD = keskihajonta.

^a Lisäpitoisuuksia ajettiin, mutta näitä tietoja ei ilmoiteta taulukossa.

Taulukko 8: LLoQ:n määrittäminen HBV-genotyyppien kesken seerumista

HBV-genotyyppi	Reagens- siera	Aptima HBV Quant ^a (IU/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ IU/mL)	KESKIHAJONTA (Log ₁₀ IU/mL)	Poikkeama (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TE (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TAE (Log ₁₀ IU/mL)
A	1	4	0,65	0,26	0,25	0,73	0,77
	2	6	0,81	0,26	0,04	0,74	0,56
B	1	5	0,70	0,19	0,26	0,54	0,64
	2	5	0,72	0,25	0,18	0,72	0,69
C	1	5	0,66	0,26	0,30	0,74	0,82
	2	6	0,81	0,26	0,10	0,74	0,62
D	1	7	0,84	0,27	0,42	0,75	0,95
	2	9	0,96	0,27	0,29	0,76	0,83
E	1	6	0,79	0,26	0,38	0,75	0,91
	2	8	0,89	0,28	0,29	0,79	0,84
F	1	6	0,76	0,23	0,08	0,66	0,55
	2	5	0,71	0,26	0,14	0,72	0,65
G	1	8	0,89	0,28	0,29	0,80	0,85
	2	5	0,66	0,24	0,29	0,67	0,77
H	1	6	0,74	0,24	0,43	0,67	0,90
	2	6	0,81	0,29	0,37	0,82	0,95

SD = keskihajonta.

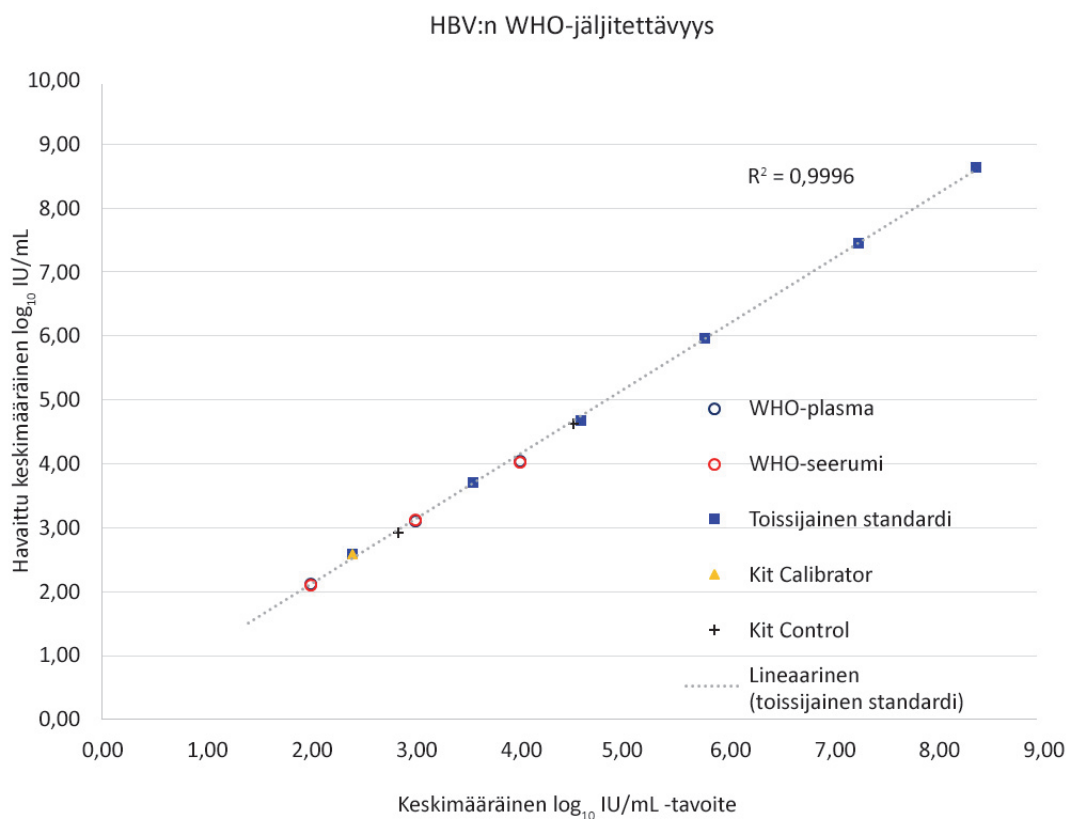
^a Lisäpitoisuuksia ajettiin, mutta näitä tietoja ei ilmoiteta taulukossa.

Taulukko 9: LLoQ:n yhteenvedo genotyyppien kesken plasman ja seerumin osalta

Genotyyppi	Plasman LLoQ		Seerumin LLoQ	
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
A	7	0,85	6	0,81
B	6	0,75	5	0,72
C	6	0,75	6	0,81
D	8	0,91	9	0,96
E	8	0,88	8	0,89
F	7	0,86	6	0,76
G	4	0,65	8	0,89
H	7	0,83	6	0,81

Jäljitettävyys WHO:n kolmannen kansainvälisen standardin mukaan

Joukkoa toissijaisia standardeja, joilla on tunnetut pitoisuudet, käytettiin koko tuotekehityksessä ja tuotteen valmistuksessa, jotta voitiin määrittää jäljitettävyys WHO-standardin mukaan. HBV:n WHO-standardin suhteen testatut pitoisuudet olivat 2,0–4,0 log₁₀ IU/mL, ja toissijaisten standardien pitoisuus oli 2,4–8,4 log₁₀ IU/mL. Aptima HBV Quant -määrityksen kontrollit ja kalibraattorit testattiin myös yhdessä toissijaisten standardien ja WHO-standardin kanssa. Kaikki testisarjat antoivat samankaltaisia tuloksia, ja ne jakautuivat lineaarisesti määrityksen lineaariselle alueelle, kuten Kuva 8 esittää.



Kuva 8. HBV:n kolmannen WHO-standardin tavoitepitoisuuksien ja Aptima HBV Quant -määrityksestä havaittujen pitoisuuksien välinen jäljitettävyys

Toistotarkkuus

Aptima HBV Quant -toistotarkkuustestisarja luotiin laimentamalla HBV-genotyyppin A viruksen ja HBV-plasmin DNA HBV-negatiiviseen kliiniseen plasmaan ja HBV-negatiiviseen kliiniseen seerumiin (kunkin matriisiin neljä korkeinta testisarjan jäsentä olivat plasmidi-DNA:ta).

Yksitoista testisarjan jäsentä kussakin matriisissa kattoi määrityksen alueen (tavoitepitoisuudet 1,30 log₁₀ IU/mL – 8,90 log₁₀ IU/mL), ja yksi käyttäjä testasi ne kolmena rinnakkaisnäytteenä ajoa kohti käyttäen kolmea reagenssierää yhdessä Panther-järjestelmässä kolmen päivän ajan, kaksi ajoa päivässä.

Taulukko 10 esittää määrityksen tulosten toistotarkkuuden (yksiköissä log₁₀ IU/mL) päivien välillä, erien välillä, ajojen välillä, ajojen sisällä ja kokonaisuudessaan. Kokonaisvaihtelu johtui pääasiassa ajon sisäisestä mittauksesta (eli satunnaisvirheestä).

Taulukko 10: Aptima HBV Quant -määrityksen toistotarkkuus

Matriisi	Näyte	N	Keskipi- toisuus	Keskipi- toisuus	Erien välillä	Erien välillä	Päivien välillä	Päivien välillä	Ajojen välillä	Ajojen välillä	Ajon sisällä	Ajon sisällä	Yhteensä	Yhteensä
			(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	KESKIHA- JONTA	Log- normaa- linen CV(%)	KESKIHA- JONTA	Log- normaa- linen CV(%)	KESKIHA- JONTA	Log- normaa- linen CV(%)	KESKIHA- JONTA	Log- normaa- linen CV(%)	KESKIHA- JONTA	Log- normaa- linen CV(%)
Plasma	Virus	34 ^a	32	1,21	0,07	16,2	0,07	16,2	0,05	11,7	0,28	71,8	0,28	78,2
		54	97	1,95	0,05	11,7	0,03	6,8	0,02	5,7	0,15	36,8	0,17	39,9
		54	1.474	3,16	0	1,0	0,02	3,8	0,02	4,8	0,07	15,6	0,07	16,8
		54	10.602	4,02	0,02	4,8	0,02	3,6	0,01	2,4	0,06	14,9	0,07	16,2
		54	429.428	5,63	0,03	6,7	0,01	2,7	0,01	2,4	0,06	14,1	0,07	16,1
	Plasmidi-DNA	54	652.103	5,8	0,06	14,2	0,01	3,4	0,01	2,0	0,06	13,1	0,09	19,8
	Virus	54	7.617.612	6,88	0,02	5,6	0,00	0,4	0,02	4,2	0,06	13,4	0,07	15,1
	Plasmidi-DNA	54	10.662.942	7,02	0,02	5,3	0,01	2,3	0,01	2,6	0,06	13,1	0,06	14,5
	Virus	54	89.149.358	7,95	0,01	3,4	0,01	2,7	0,01	1,6	0,04	9,7	0,05	10,8
	Plasmidi-DNA	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
		54	612.200.000	8,78	0,03	7,6	0,01	1,9	0,01	1,5	0,04	9,0	0,05	12,0
Seerumi	Virus	29 ^a	33	1,27	0,13	31,0	0,08	18,6	0,06	13,9	0,29	75,0	0,33	88,4
		54	88	1,92	0,05	11,2	0,02	4,8	0,02	5,5	0,12	29,1	0,14	32,3
		54	1.446	3,15	0,02	3,7	0,01	1,9	0,00	1,1	0,08	17,8	0,08	18,3
		54	7.873	3,89	0,02	4,8	0,01	2,6	0,01	2,1	0,06	13,4	0,06	14,6
		54	313.518	5,49	0,01	3,3	0,01	3,0	0,01	3,2	0,08	17,4	0,08	18,3
	Plasmidi-DNA	54	599.225	5,77	0,04	8,5	0,01	2,5	0,01	2,5	0,06	14,7	0,08	17,4
	Virus	54	7.011.440	6,84	0,02	3,5	0,01	3,2	0,01	3,3	0,07	16,9	0,08	17,9
	Plasmidi-DNA	54	8.845.332	6,94	0,05	11,9	0,01	2,2	0,01	2,2	0,05	12,2	0,07	17,4
	Virus	54	70.350.774	7,84	0,03	6,3	0,02	3,5	0,02	4,4	0,06	14,4	0,07	16,7
	Plasmidi-DNA	53 ^b	122.800.000	8,08	0,04	9,9	0,01	2,2	0,01	1,8	0,04	10,4	0,06	14,6
		54	678.700.000	8,83	0,02	3,6	0,01	2,2	0,01	1,8	0,05	11,7	0,05	12,5

SD = keskihajonta.

^a Havainnoidut rinnakkaisnäytteet, joilla on kvantifioitava tulos, havainnoituja rinnakkaisnäytteitä yhteensä = 54.

^b Yhdellä rinnakkaisnäytteellä oli epäkelpo tulos.

Log-normaalinen CV(%) = $\frac{10^{(SD^2 \cdot \ln(10))} - 1}{2} \cdot 100$

Mahdollisesti häiritsevät aineet

Aptima HBV Quant -määrityksen herkkyys endogeenisten aineiden tai HBV-infektion saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin. Testauksessa testattiin HBV-negatiiviset plasmanäytteet ja näytteet, joihin oli lisätty HBV:tä noin pitoisuudella 30 IU/mL ($1,48 \log_{10}$ IU/mL) ja 20 000 IU/mL ($4,30 \log_{10}$ IU/mL).

Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriötä albumiinin (90 mg/mL), hemoglobiinin (5 mg/mL), triglyserideihin (30 mg/mL) tai konjugoitumattoman bilirubiinin (0,2 mg/mL) läsnä ollessa.

Sellaisten potilaiden, joilla määritettyjen aineiden pitoisuudet olivat koholla, tai sellaisten potilaiden, joilla oli kyseiset sairaudet, kymmenen näytettä kunkin aineen osalta (aineet luettelee Taulukko 11) testattiin Aptima HBV Quant -määrityksellä.

Määrityksen suorituskyvyssä ei havaittu mitään häiriötä.

Taulukko 11: Testattujen kliinisten näytteiden tyypit

Kliinisten näytteiden tyypit	
1	Tumavasta-aine (ANA)
2	Reumatoiditekijä (RF)
3	Alkoholin aiheuttama kirroosi (AC)
4	Alkoholin aiheuttama hepatiitti
5	Muu kuin alkoholin aiheuttama hepatiitti
6	Autoimmunihepatiitti
7	Kohonnut alaniiniaminotransferaasipitoisuus (ALT)
8	Hepatosellulaarinen karsinoma (HCC)
9	Multippeliskleroosi (MS)
10	Systeeminen lupus erythematosus (SLE)
11	Hyperglobulinemia
12	Nivelreuma (RA)
13	Jo-1:n vasta-aine (JO-1)
14	Multippeli myelooma (MM)
15	Hemolysoitu (kohonnut hemoglobiinipitoisuus)
16	Keltatauti (kohonnut bilirubiinipitoisuus)
17	Lipemia (kohonnut lipidipitoisuus)
18	Kohonnut proteiini

Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä, kun eksogeenisiä aineita, jotka Taulukko 12 luettelee, oli pitoisuuksilla, jotka olivat vähintään kolme kertaa C_{max} (ihmisen plasma).

Taulukko 12: Eksogeeniset aineet

Eksogeeniset aineet yhdistettyinä	Testatut eksogeeniset aineet
1	Sakinaviiri, ritonaviiri, amprenaviiri, indinaviiri, lopinaviiri, nelfinaviiri, mesylaatti
2	Klaritromysiini, valgansikloviiri, efavirentsi, nevirapiini
3	Paroksetiini-HCl, enfuvirtidi, tsidovudiini, didanosini, abakaviirisulfaatti
4	Ribaviriini, entekaviiri, adefoviiridipivoksiili, tenofoviiri-disoproksiilifumaraatti, lamivudiini, gansikloviiri, asykloviiri
5	Stavudiini, siprofloksasiini, fluoksetiini, atsitromysiini, valasykloviiri, sertraliini, tsalsitabiini
6	Interferoni-alfa-2a, interferoni-alfa-2b, pegyloitu interferoni-alfa-2b

Analyttinen spesifisyys

Mahdollinen ristireaktiivisuus patogeenien (jotka Taulukko 13 luettelee) kanssa arviointiin HBV-negatiivisella ihmisen plasmalla, kun läsnä oli tai ei ollut 30 IU/mL ($1,5 \log_{10}$ IU/mL) ja 20 000 ($4,3 \log_{10}$ IU/mL) HBV:n DNA:ta. Ristireaktiivisuutta ei havaittu. Patogeenien läsnä ollessa ei havaittu mitään häiriötä.

Taulukko 13: Analyttisen spesifisyyden suhteen testatut patogeenit

Mikro-organismi/patogeeni	Pitoisuus	Mikro-organismi/patogeeni	Pitoisuus
Adenovirus 5	100 000 TCID50/mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CFU/mL ^e
BK ihmisen polyomavirus	1 000 TCID50/mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000 IFU/mL ^f
Sytomegalovirus	100 000 TCID50/mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000 CFU/mL
Denguevirus 1	10 000 TCID50/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 CFU/mL
Denguevirus 2	10 000 TCID50/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 CFU/mL
Denguevirus 3	10 000 TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CFU/mL
Denguevirus 4	100 000 TCID50/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 CFU/mL
Epstein-Barr-virus	100 000 kopiota/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000 CFU/mL
Influenssa H1N1	100 000 TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000 CFU/mL
Hepatiitti A -virus	100 000 TCID50/mL	^a TCID50/mL = kudosisijelmän tartuttavat annosyksiköt millilitrassa	
Hepatiitti C -virus	100 000 IU/mL ^b	^b IU/mL = kansainväliset yksiköt millilitrassa	
Hepatiitti G -virus	100 000 kopiota/mL	^c vp/mL = viruspartikkelit millilitrassa	
Ihmisen herpesvirus 6B	100 000 kopiota/mL	^d LD50/mL = tappava annos millilitrassa	
Ihmisen herpesvirus 8	100 000 kopiota/mL	^e CFU/mL = pesäkkeen muodostavat yksiköt millilitrassa	
HIV-1	100 000 IU/mL	^f IFU/mL = inklusion muodostavat yksiköt millilitrassa	
HIV-2	10 000 TCID50/mL		
Ihmisen papilloomavirus	100 000 kopiota/mL		
Herpes simplex -virus 1 (HSV-1)	100 000 TCID50/mL		
Herpes simplex -virus 2 (HSV-2)	100 000 TCID50/mL		
Ihmisen T-solujen lymfotrooppinen virus, tyyppi 1 (HTLV-1)	100 000 vp/mL ^c		
Ihmisen T-solujen lymfotrooppinen virus, tyyppi 2 (HTLV-2)	100 000 vp/mL		
Japanilainen aivokuumevirus	Ei SOVELLU	Ei SOVELLU	
Murray Valleyn aivokuumevirus	2 000	LD50/mL ^d	
Parvovirus B19	100 000	IU/mL	
Vihurirokkovirus	10 000	TCID50/mL	
St. Louisin aivokuumevirus	100 000	TCID50/mL	
Vaccinia-virus	1 000	TCID50/mL	
Länsi-Niilin virus	100 000	TCID50/mL	
Keltakuumevirus	100 000	TCID50/mL	

Matriisin ekvivalenssi

Satakahdeksantoista näytejoukkoa, jotka koostuivat täsmäavista verinäytteiden näytteenottoputkista (seerumiputki, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) arvioitiin matriisin ekvivalenssin osalta. Näistä 44 joukkoa oli luonnollisesti infektioituneita HBV-positiivisia, ja 74 joukkoa oli HBV-negatiivisia, joihin oli lisätty HBV-virusta. Taulukko 14 esittää kunkin verinäytteen näytteenottoputkityypin korrelaation, joka mitattiin käyttämällä seeruminäytteen keräysputkea vertailuun.

Taulukko 14: Matriisin ekvivalenssin tutkimus

Verinäytteen ottaminen Putki	Demingin regressio	Kulmakertoimen 95 %:n luottamusväli		Leikkauspisteen 95 %:n luottamusväli		R ²	Keskiero (Log ₁₀)
		Ala- raja	Ylä- raja	Ala- raja	Ylä- raja		
ACD	$y = 1,01x - 0,04$	1,00	1,02	-0,10	0,01	0,998	-0,01
K2 EDTA	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,20	-0,07	0,997	-0,07
K3 EDTA	$y = 1,01x - 0,12$	1,00	1,03	-0,18	-0,06	0,997	-0,06
PPT	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,21	-0,07	0,996	-0,06
SST	$y = 1,00x - 0,03$	0,99	1,01	-0,07	0,03	0,999	-0,01

LV = luottamusväli.

Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:3)

Jotta voitiin arvioida HBV:n DNA:n tunnistustarkkuus näytteissä, jotka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella, lineaarisen alueen kattavat näytteet laimennettiin 1:3 Aptima-näytteenlaimentimella (kuten 240 µL näytettä yhdessä 480 µL:n Aptima-näytteenlaimenninta kanssa). Jokainen näyte testattiin laimentamattomana ja laimennettuna (1:3) kolmena rinnakkaisnäytteenä. Testaus suoritettiin käyttämällä yhtä määritysreagenssierä kahdessa Panther-järjestelmässä kahdella Aptima-näytteenlaimennoserällä. Natiivissa matriisissa ilmenevän keskimääräisen ilmoitetun pitoisuuden (laimennuskerronta käytetty laimennetun näytteen tulokseen) ja Aptima-näytteenlaimentimessa ilmenevän keskimääräisen pitoisuuden ero esitetään plasmalle (Taulukko 15) ja seerumille (Taulukko 16). Näytepitoisuudet saatiin tarkasti talteen laimennetuista näytteistä.

Taulukko 15: Plasmanäytteen 1:3-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto

Plasmamatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Ero Laimennin plasmamatriisista (Log ₁₀ IU/mL)
1,20 ^a	1,11 ^b	-0,09
1,56 ^a	1,36 ^b	-0,20
2,15	2,04	-0,11
3,10	2,97	-0,13
3,92	3,89	-0,03
4,82	4,79	-0,03
5,70	5,70	0,00
7,07	6,98	-0,09
7,74	7,60	-0,14
8,74	8,62	-0,12
9,29	9,19	-0,10
9,39	9,29	-0,10

^a n = 21.^b n = 42.

Taulukko 16: Seeruminäytteen 1:3-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto

Seerumimatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 9	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 18	Ero Laimennin seerumimatriisista (Log ₁₀ IU/mL)
1,21 ^a	1,11 ^b	-0,10
1,54 ^a	1,36 ^b	-0,18
2,21	2,03	-0,18
3,06	2,98	-0,08
3,90	3,83	-0,07
4,77	4,76	-0,01
5,77	5,74	-0,03
7,03	7,00	-0,03
7,85	7,71	-0,14
8,87	8,76	-0,11
9,37	9,30	-0,07
9,46	9,36	-0,10

^a n = 21.^b n = 42.

Näytteen laimentaminen Aptima-näytteenlaimentimella (1:100)

Jotta voitiin arvioida HBV:n DNA:n tunnistuksen tarkkuus Aptima-näytteenlaimentimella, plasmalla tai seerumilla laimennetuissa näytteissä, kahdeksan yksittäistä plasmanäytettä ja kahdeksan yksittäistä seeruminäytettä, joihin oli lisätty HBV-virusta tavoitepitoisuuksilla 6–8 log₁₀ IU/mL, sekä kahdeksan yksittäistä plasmanäytettä ja kahdeksan yksittäistä seeruminäytettä, joihin oli lisätty HBV:n plasmidi-DNA:ta, jonka tavoitepitoisuudet olivat 9,16 log₁₀ IU/mL, testattiin viitenä rinnakkaisnäytteenä. 1:100-laimennus suoritettiin yhdelle näytteen osalle ja 99 osalle Aptima-näytteenlaimenninta juuri ennen testausta.

Testaus suoritettiin käyttämällä yhtä määritysreagenssierä kahdessa Panther-järjestelmässä kahdella Aptima-näytteenlaimennoserällä. Natiivissa matriisissa ilmenevän keskimääräisen ilmoitetun pitoisuuden (laimennuskerrointa käytetty laimennetun näytteen tulokseen) ja

Aptima-näytteenlaitentimessa ilmenevän keskimääräisen pitoisuuden ero laskettiin kullekin näytejoukolle, minkä Taulukko 17 ilmoittaa plasmalle ja Taulukko 18 seerumille.

Taulukko 17: Plasmanäytteen 1:100-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto

Plasmamatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Ero Laimennin plasmamatriisista (Log ₁₀ IU/mL)
7,86	7,85	-0,01
7,84	7,83	-0,01
7,78	7,75	-0,03
7,80	7,80	0,00
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,52	-0,06
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,53	-0,05
9,24 ^a	9,05 ^a	-0,19
9,21 ^a	9,05 ^a	-0,16
9,25 ^a	9,03 ^a	-0,22
9,27 ^a	9,04 ^a	-0,23
9,13 ^a	8,82 ^a	-0,31
9,12 ^a	8,81 ^a	-0,31
9,09 ^a	8,84 ^a	-0,25
9,05 ^a	8,84 ^a	-0,21

^a Lisätty plasmidi-DNA:ta

Taulukko 18: Seeruminäytteen 1:100-laimennoksen matriisien vertailun yhteenveto

Seerumimatriisi Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 5	Laimennin Ilmoitettu keskipitoisuus (Log ₁₀ IU/mL) n = 10	Ero Laimennin seerumimatriisista (Log ₁₀ IU/mL)
7,70	7,85	0,15
7,84	7,85	0,01
7,79	7,82	0,03
7,75	7,79	0,04
6,77	6,77	0,00
6,75	6,80	0,05
6,75	6,71	-0,04
6,70	6,73	0,03
9,27 ^a	9,08 ^a	-0,19
9,24 ^a	9,06 ^a	-0,18
9,29 ^a	9,08 ^a	-0,21
9,31 ^a	9,11 ^a	-0,20
9,14 ^a	8,91 ^a	-0,23
9,18 ^a	8,92 ^a	-0,26
9,19 ^a	8,90 ^a	-0,29
9,08 ^a	8,84 ^a	-0,24

^a Lisätty plasmidi-DNA:ta

LLOQ:n vahvistaminen näytteillä, jotka on laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella

Aptima HBV Quant -määrityksen LLOQ vahvistettiin HBV-genotyypin A kliinisillä näytteillä, jotka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella. Näytteet valmistettiin HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan ja seerumiin pitoisuuksilla 21, 30 ja 45 IU/mL. Jokainen testisarja laimennettiin 1:3 Aptima-näytteenlaimentimella juuri ennen testausta siten, että loppupitoisuudeksi saatiin noin 7, 10 ja 15 IU/mL. Yhdellä reagenssierällä testattiin yhteensä 36 kunkin testisarjan jäsenen rinnakkaisnäytettä kolmen päivän aikana. LLOQ $\leq$ 10 IU/mL vahvistettiin HBV-plasmalle ja -seerumille, joka oli laimennettu Aptima-näytteenlaimentimella, kuten Taulukko 19 osoittaa.

Taulukko 19: LLOQ:n vahvistaminen – näytteet Aptima-näytteenlaimentimessa

Matriisi	Tunnistettujen %-osuus	Aptima HBV Quant (IU/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ IU/mL)	KESKHAJONTA (Log ₁₀ IU/mL)	Poikkeama (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TE (Log ₁₀ IU/mL)	Laskettu TAE (Log ₁₀ IU/mL)
Plasma	100 %	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Seerumi	100 %	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Laimennettujen näytteiden toistotarkkuus

Aptima HBV Quant -toistotarkkuustestisarja luotiin laimentamalla HBV-positiivinen plasma ja HBV-plasmidin DNA HBV-negatiiviseen kliiniseen plasmaan ja seerumiin. Positiiviset testisarjat laimennettiin Aptima-näytteenlaimentimella. Yksi käyttäjä testasi ne viidellä rinnakkaisnäytteellä ajoa kohti käyttäen kolmea Aptima-näytteenlaimennoserää yhdessä Panther-järjestelmässä kolmen testipäivän ajan, kaksi ajoa päivässä.

Taulukko 20 esittää määrityksen tulosten toistotarkkuuden (yksiköissä SD log₁₀ IU/mL) kolmelle Aptima-näytteenlaimennoserälle. Kokonaisvaihtelu oli $\leq$ 0,15 SD kaikkien testisarjan jäsenten ja laimenninerien välillä.

Taulukko 20: Aptima-näytteenlaimentimella laimennettujen testisarjojen toistotarkkuus

Matriisi	Tavoitepitoisuus (log ₁₀ IU/mL)	Laimennos	Erän 1 näytteenlaimennin (n = 10)		Erän 2 näytteenlaimennin (n = 10)		Erän 3 näytteenlaimennin (n = 10)		Yhdistetyt erät (n = 30)	
			Keskimmääräinen log ₁₀ IU/mL	KESKHAJONTA	Keskimmääräinen log ₁₀ IU/mL	KESKHAJONTA	Keskimmääräinen log ₁₀ IU/mL	KESKHAJONTA	Keskimmääräinen log ₁₀ IU/mL	KESKHAJONTA
Plasma	3,30	Sekoittamaton	3,46	0,07	3,43	0,08	3,46	0,06	3,45	0,07
		1:3	3,36	0,09	3,35	0,07	3,39	0,09	3,37	0,08
	4,30	Sekoittamaton	4,33	0,06	4,27	0,03	4,41	0,05	4,34	0,08
		1:3	4,34	0,05	4,35	0,05	4,38	0,10	4,35	0,07
	9,18	Sekoittamaton	9,13	0,05	9,10	0,03	9,26 ^a	0,15	9,16 ^a	0,11
		1:100	9,18	0,03	9,14	0,04	9,33	0,10	9,21	0,10
Seerumi	3,30	Sekoittamaton	3,52	0,05	3,48	0,06	3,50	0,07	3,50	0,06
		1:3	3,45	0,08	3,40	0,06	3,39	0,08	3,41	0,07
	4,30	Sekoittamaton	4,35	0,05	4,37	0,06	4,43	0,06	4,38	0,06
		1:3	4,35	0,05	4,37	0,05	4,41	0,04	4,37	0,05
	9,18	Sekoittamaton	9,08	0,03	9,14	0,05	9,31 ^b	0,12	9,17 ^b	0,12
		1:100	9,18	0,02	9,14	0,03	9,33	0,09	9,22	0,10

SD = keskihajonta.

^a 1 rinnakkaisnäyte suljettiin pois (se ylitti laskettavan alueen).

^b 2 rinnakkaisnäytettä suljettiin pois (ne ylittivät laskettavan alueen).

Näytteiden välinen kontaminaatio

Käyttämällä kolmea Panther-järjestelmää ja testisarjoja, joihin oli lisätty HBV:tä, määritettiin, että Panther-järjestelmä vähentää näytteiden välisen kontaminaation aiheuttamien epäkelpojen positiivisten tulosten riskiä. Näytteiden välinen kontaminaatio arvioitiin käyttämällä väkeviä plasmanäytteitä, joihin oli lisätty HBV:n DNA:ta ($8 \log_{10}$ IU/mL), HBV-negatiivisten näytteiden joukkoon shakkilautakuvion tavoin siroteltuina. Testaus suoritettiin viidellätoista ajolla. Näytteiden välisen kontaminaation kokonaisosuus oli 0,14% (1/705).

Toistettavuus

Toistettavuus arviointiin Panther-järjestelmällä kolmessa ulkopuolisessa yhdysvaltalaisessa tutkimuspaikassa. Kussakin tutkimuspaikassa testauksen suoritti kaksi käyttäjää. Jokainen käyttäjä suoritti kaksi ajoa päivässä kolmen päivän ajan käyttäen kolmea reagenssierää koko testauksen ajan. Jokaisessa ajossa oli kolme toistonäytettä kustakin testisarjan jäsenestä. Kukin testisarjan jäsen testattiin 108 rinnakkaisnäytteellä.

Toistettavuus testattiin käyttäen HBV-negatiivista plasmaa käyttäen valmistetuilla testisarjan jäsenillä. Positiiviset testisarjan jäsenet olivat positiivisia HBV-genotyypin A tai C osalta. HBV:n DNA:n pitoisuudet kattoivat määrittelyn lineaarisen alueen.

Taulukko 21 esittää määrittelyn tulosten toistettavuuden ja toistotarkkuuden kullekin positiiviselle testisarjan jäsenelle käyttäjien/päivien, erien, ajojen välillä, ajojen sisällä ja kokonaisuudessaan.

Variaatiokerroin laskettiin käyttäen seuraavaa yhtälöä, jossa σ^2 on tietojen näytteen vaihtelu $\log_{10}$ -muunnoksen jälkeen.

$$CV\% = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma^2 \ln(10)} - 1)}$$

Kaikille HBV-positiivisille testisarjan jäsenille, yhdenmukaisuusarvot olivat 100 %.

Taulukko 21: Aptima HBV Quant -määrittelyn HBV:n DNA-pitoisuuksien toistettavuus Panther-järjestelmällä positiivisten testisarjan jäsenten osalta

GT	N	Havaittu keskimääräinen		Prosentuaalinen osuus kokonaisvaihtelusta SD (CV%)					Kokonaisvarianssin keskihajonta (CV%)
		IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	Paikkojen välillä	Käyttäjien/päivien välillä ^a	Erien välillä	Ajojen välillä	Ajojen sisällä	
A	108	17,6	1,2	0,059 (13,578)	(< 0,001) (< 0,001)	0,138 (32,693)	0,090 (20,869)	0,178 (42,883)	0,250 (62,666)
	108	129,4	2,1	0,009 (2,162)	0 (0)	0,074 (17,109)	0,051 (11,869)	0,106 (24,736)	0,139 (32,886)
	107	1 056,0	3,0	0,035 (7,994)	0,032 (7,432)	0,014 (3,246)	0,032 (7,356)	0,085 (19,666)	0,103 (24,060)
	108	7 663,0	3,9	0 (0)	0,027 (6,262)	0,040 (9,235)	0,044 (10,088)	0,066 (15,194)	0,092 (21,540)
	108	188 172,1	5,3	0,027 (6,281)	0,042 (9,707)	0,042 (9,787)	0,030 (6,829)	0,072 (16,689)	0,102 (23,772)
	108	9 389 094,1	7,0	0,038 (8,846)	0 (0)	0,031 (7,237)	0,064 (14,791)	0,068 (15,756)	0,106 (24,692)
	107	86 664 677,2	7,9	0,038 (8,692)	0,029 (6,753)	0,020 (4,584)	0,037 (8,635)	0,049 (11,375)	0,081 (18,725)
	107	753 726 183,2	8,9	0,024 (5,476)	0,052 (11,997)	0,015 (3,499)	0,045 (10,304)	0,053 (12,187)	0,091 (21,163)
C	107	17,0	1,2	0,041 (9,521)	0,041 (9,392)	0,074 (17,147)	0,092 (21,438)	0,189 (45,704)	0,230 (57,010)
	108	152,9	2,2	0,035 (8,127)	0 (0)	0,055 (12,706)	0,064 (14,925)	0,131 (30,748)	0,160 (38,013)
	108	1 363,8	3,1	0,042 (9,583)	0,023 (5,316)	0 (0)	0,061 (14,033)	0,055 (12,623)	0,094 (22,002)
	108	9 871,9	4,0	0,011 (2,472)	0,014 (3,270)	0,040 (9,337)	0,038 (8,801)	0,059 (13,651)	0,083 (19,291)
	108	217 400,5	5,3	0,031 (7,255)	0,047 (10,843)	0,016 (3,791)	0,026 (6,023)	0,063 (14,685)	0,090 (21,044)
	108	12 087 179,5	7,1	0,046 (10,543)	0 (0)	0,020 (4,652)	0,064 (14,762)	0,073 (16,922)	0,109 (25,501)
	108	57 743 712,8	7,8	0,044 (10,232)	0,028 (6,472)	0,013 (2,944)	0,043 (10,026)	0,052 (12,010)	0,087 (20,146)
	108	572 184 754,9	8,7	0,042 (9,711)	0,048 (11,160)	0,028 (6,374)	0,034 (7,740)	0,048 (11,081)	0,091 (21,208)

CV% = log-normaalinen variaatiokerroin, GT = genotyyppi, SD = keskihajonta.

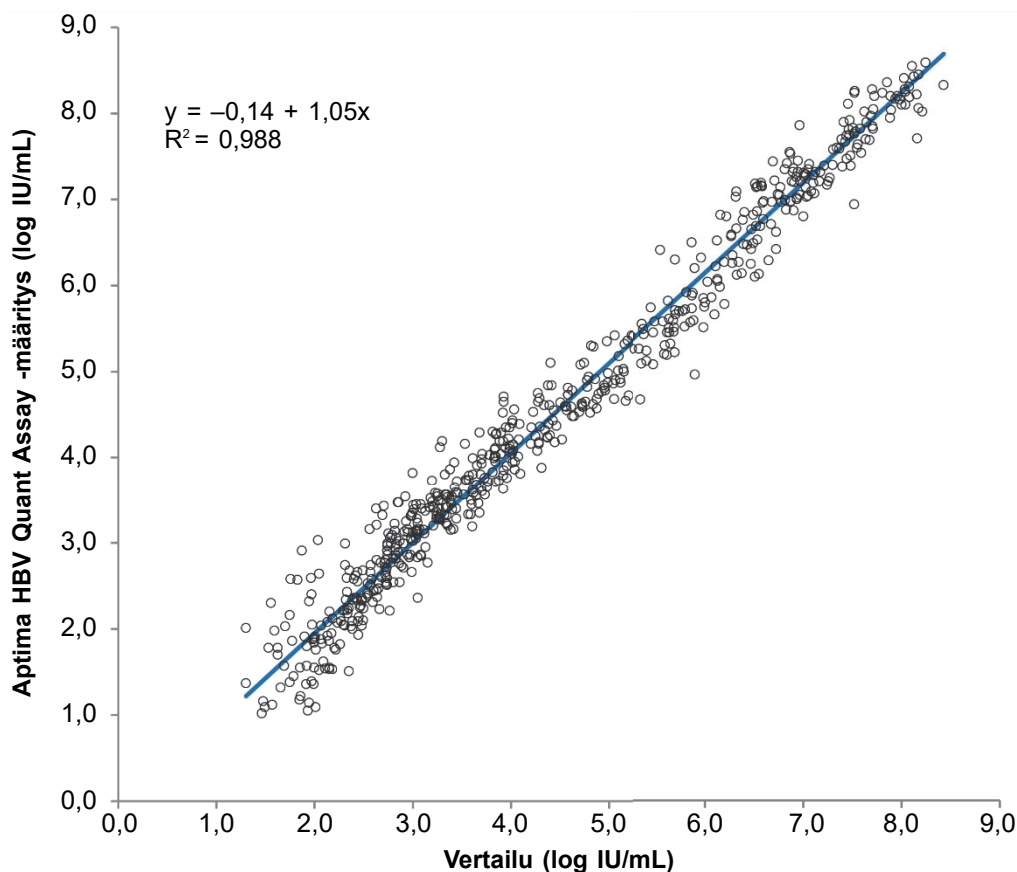
Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi saada negatiivisen numeroarvon. Näin voi käydä, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonnan ja variaatiokertoimen arvoina esitetään 0.

^a Käyttäjien välillä -arvio voi sekoittua päivien välillä -arvion kanssa; siksi käyttäjien välillä- ja päivien välillä -arviot on yhdistetty käyttäjien/päivien välillä -arvioiksi.

Kliininen suorituskyky

Menetelmän korrelaatio

Aptima HBV Quant -määrityksen suorituskykyä arvioitiin verrattuna CE-merkittyyneen ja Health Canada -luvan saaneeseen vertailumääritykseen testaamalla HBV-infektioituneiden potilaiden laimentamattomia kliinisiä näytteitä. Lineaariseen regression käytettiin yhteensä 614 kliinistä näytettä kummallekin määrittelylle yhteiseltä lineaariselta alueelta siten kuin Kuva 9 esittää.



Kuva 9. Aptima HBV Quant -määrityksen ja vertailumäärityksen välinen korrelaatio

Kliininen käytettävyys

Tutkimus suunniteltiin siten, että voitiin arvioida Aptima HBV Quant -määrityksen kyky ennakoita virologiset, biokemialliset ja serologiset kliinisen käytettävyyden päätetapahtumat 48 viikkoa hoidon aloittamisen jälkeen. Näytteet otettiin prospektiivisesti tutkittavilta, joilla oli krooninen HBV-infektio ja jotka aloittivat monoterapian entekaviirillä tai tenofoviirillä osana heidän tavanomaista hoitoaan.

331 tutkimukseen osallistuneesta tutkittavasta 86 tutkittavaa ei voitu arvioida tutkimukseen osallistumisen keskeyttämisen, tutkimuksen päättymisen, ennenaikaisen hoidon päättymisen, viikon 48 tulosten puuttumisen tai puuttuvien tai matalien lähtötilanteen HBV:n DNA:n viruskuormien vuoksi. Jäljellä olevat 245 tutkittavaa voitiin arvioida vähintään toisen kliinisen käytettävyyden päätetapahtuman osalta, ja ne sisälsivät 126 HBeAg(+)- ja 119 HBeAg(-)-tutkittavaa. Taulukko 22 esittää arvioitavissa olevien tutkittavien väestötiedot ja lähtötilanteen kliiniset ominaisuudet. Tähän tutkimukseen osallistuvien tutkittavien väestöllinen jakauma vastasi Yhdysvalloissa kroonista HBV:tä sairastavien potilaiden väestöjakaumaa.¹³ HBeAg(+)- ja HBeAg(-)-tutkittavilta saadut tiedot analysoitiin erikseen.

Taulukko 22: Arvioitavissa olevien tutkittavien väestötiedot ja lähtötilanteen kliiniset ominaisuudet

Ominaisuudet		Yhteensä
Yhteensä, N	N	245
Entekaviiri	n (%)	94 (38,4)
Tenofoviiri	n (%)	151 (61,6)
Sukupuoli, n (%)	Mies	154 (62,9)
	Nainen	91 (37,1)
Ikä (vuotta)	Keskiarvo ± keskihaj.	43,5 ± 13,63
	Mediaani	44,0
	Alue	18–83
Ikäluokka (vuotta), n (%)	18–29	40 (16,3)
	30–49, n (%)	120 (49,0)
	50–70, n (%)	80 (32,7)
	> 70, n (%)	5 (2,0)
Etninen tausta, n (%)	Hispaani tai latino	7 (2,9)
	Ei hispaani eikä latino	236 (96,3)
	Tuntematon/kieltäytyi	2 (0,8)
Rotu ^a , n (%)	Valkoinen	89 (36,3)
	Tummaihoisen	16 (6,5)
	Aasialainen	132 (53,9)
	Amerikan intiaani tai Alaskan alkuperäiskansaa	0 (0,0)
	Havaijin tai Tyynenmeren saarten alkuperäiskansaa	6 (2,4)
	Muu	1 (0,4)
	Tuntematon/kieltäytyi	1 (0,4)
Genotyyppi, n (%)	A	28 (11,4)
	B	64 (26,1)
	C	36 (14,7)
	D	47 (19,2)
	E	2 (0,8)
	F	0 (0,0)
	G	0 (0,0)
	H	3 (1,2)
	Tuntematon	65 (26,5)
HBV-hoidon tila, n (%)	Kokenut	27 (11,0)
	Hoitoa saamaton	218 (89,0)
Aiempi lääkehoito, n (%)	Tenofoviiri	5 (18,5)
	Entekaviiri	4 (14,8)
	Adefoviiri	2 (7,4)
	Lamivudiini	1 (3,7)
	Telbivudiini	0 (0,0)
	Interferoni	10 (37,0)
	Muu ^b	5 (18,5)
Aiempi hoitotulos, n (%)	Epäonnistunut	1 (3,7)
	Onnistunut	0 (0,0)
	Keskeytti muista syistä	26 (96,3)
HBsAg-serostatus, n (%)	Positiivinen/reaktiivinen	210 (85,7)
	Ei tehty	35 (14,3)

Taulukko 22: Arvioitavissa olevien tutkittavien väestötiedot ja lähtötilanteen kliiniset ominaisuudet (jatkuu)

Ominaisuudet		Yhteensä
Kirroositila, n (%)	Kirroosi	26 (10,6)
	Ei kirroosia	201 (82,0)
	Ei tehty	18 (7,3)
HBV-viruskuorma (log ₁₀ IU/mL)	Keskiarvo ± keskihaj.	6,3 ± 1,93
	Mediaani	6,4
	Alue	3–9
ALT (U/L)	Keskiarvo ± keskihaj.	102,4 ± 175,97
	Numero ylittää ULN:n ^c	177 (85,9)

^a Tutkittavat voivat ilmoittaa useita rotuja.

^b Erilaiset lueteltujen määrättyjen lääkkeiden yhdistelmät.

^c Normaaliarueen yläraja (ULN) alaniiniaminotransferaasille (ALT) oli 30 U/L miesten tapauksessa ja 19 U/L naisten tapauksessa.

Virislääkehoidon vasteen ennakointi

Aptima HBV Quant -määrityksen kliininen käytettävyyden on arvioitu tenofoviirillä ja entekaviirillä hoidettujen henkilöiden osalta. Määrityksen kliinisestä käytettävyydestä ei ole saatavissa tietoja, kun käytetään muita HBV:n virislääkehoitoja.

Määritelmät:

Varhaisen virologisen vasteen tulokset

Viikkojen 12 ja 24 virologinen vaste = HBV:n DNA < 10 IU/mL (< LLoQ) Aptima HBV Quant -määrityksellä Panther-järjestelmässä arvioituna

Viikon 12 vaihtoehtoinen virologinen vaste = HBV:n DNA:n $\geq 2 \log_{10}$ lasku lähtötilanteesta

Viikon 24 vaihtoehtoinen virologinen vaste = HBV:n DNA < 2 000 IU/mL (HBeAg+:lle) tai < 50 IU/mL (HBeAg:-lle)

Kliinisen käytettävyyden päätetapahtumat

Viikon 48 virologinen vaste = HBV:n DNA < 10 IU/mL (< LLoQ) hyväksytyllä kvantitatiivisella HBV-määrityksellä arvioituna

Vaihtoehtoinen viikon 48 virologinen vaste = HBV:n DNA < 50 IU/mL hyväksytyllä kvantitatiivisella HBV-määrityksellä arvioituna

Biokemiallinen vaste = ALT-testitulosten normalisointi viikolla 48 (ALT < 30 U/L miehille ja < 19 U/L naisille)

Serologinen vaste = HBeAg:n (HBeAg-negatiivisten tulosten) menetys viikolla 48

Yhteyden ja ennustearvon mittarit

Positiivinen ennustearvo (PPV) = todellinen positiivinen / (todellinen positiivinen + väärä positiivinen) tai vasteen todennäköisyys viikolla 48 (arvioitavan kliinisen käytettävyyden päätetapahtuman osalta) tutkittavilla, joilla oli virologinen vaste varhaisessa ajankohdassa

Negatiivinen ennuste (Negative Predictive Value, NPV) = todellinen negatiivinen / (väärä negatiivinen + todellinen negatiivinen) tai vasteettomuuden todennäköisyys viikolla 48 (arvioitavan kliinisen käytettävyyden päätetapahtuman osalta) tutkittavilla, joilla ei ollut virologista vastetta varhaisessa ajankohdassa.

Kerrosuhte (OR) = (todellinen positiivinen × todellinen negatiivinen) / (väärä positiivinen × väärä negatiivinen)

Viikon 48 virologisen vasteen, joka on määritelty HBV:n DNA:n pitoisuudeksi < 10 IU/mL, ennakointi

Tässä tutkimuksessa virologisen vasteen ensisijainen määritelmä oli HBV:n DNA < 10 IU/mL, ja tätä määritelmää käytettiin sekä varhaiselle virologiselle vasteelle viikoilla 12 ja 24 sekä virologiselle vasteelle viikolla 48. Viikkojen 12 ja 24 varhaisten virologisten vasteiden ja viikon 48 kliinisen käytettävyyden päätetapahtumien (virologinen vaste, biokemiallinen vaste, serologinen vaste) välinen yhteys arvioitiin.

Viikolla 48 ilmenevän virologisen vasteen ennakointi

Taulukko 23 esittää viikon 48 virologisen vasteen ja viikkojen 12 ja 24 virologisen vasteen välisen yhteyden.

Varhaiset virologiset vasteet viikoilla 12 ja 24, jotka toimivat viikon 48 virologista vastetta ennakoivina tekijöinä, vaihtelivat viikoittain ja hoidoittain.

Taulukko 23: PPV, NPV ja kerroinsuhde hoidonajaiselle biokemialliselle vasteelle, jonka varhainen virologinen vaste ennakoii: Viikon 48 virologinen vaste, joksi on määritelty < 10 IU/mL

HBsAg-tila	Varhaisen virologisen vasteen viikko	Hoito	PPV (%)		NPV (%)		TAI
			Arvio (95 %-N LV)	n/N	Arvio (95 %-N LV)	n/N	Arvio (95 %-n LV) ^{a,b}
HBsAg(+)	12	Entekaviiri	0,0 (0,0, 93,2)	0/1	82,5 (80,0, 88,4)	33/40	1,49 (< 0,01, 30,95)
		Tenofoviiri	100 (27,3, 100)	2/2	74,4 (72,6, 78,7)	61/82	14,30 (1,11, > 999,99)
		Kaikki	66,7 (15,4, 98,2)	2/3	77,0 (75,7, 79,9)	94/122	6,71 (0,62, 147,55)
	24	Entekaviiri	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Tenofoviiri	75,0 (52,7, 92,3)	12/16	84,1 (78,5, 90,0)	58/69	15,81 (4,62, 65,54)
		Kaikki	70,0 (50,3, 88,1)	14/20	85,4 (81,3, 90,1)	88/103	13,69 (4,74, 44,16)
HBsAg(-)	12	Entekaviiri	94,1 (87,1, 99,0)	32/34	22,2 (7,6, 36,0)	4/18	4,57 (0,80, 35,85)
		Tenofoviiri	83,3 (70,5, 93,2)	25/30	46,9 (35,0, 58,9)	15/32	4,41 (1,42, 15,71)
		Kaikki	89,1 (82,1, 94,7)	57/64	38,0 (29,0, 47,1)	19/50	4,99 (1,96, 14,00)
	24	Entekaviiri	93,0 (88,0, 98,1)	40/43	37,5 (6,4, 67,2)	3/8	8,00 (1,21, 55,54)
		Tenofoviiri	82,6 (74,3, 90,4)	38/46	75,0 (54,1, 92,0)	12/16	14,25 (3,92, 62,71)
		Kaikki	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

LV = 95 %-n profiiliin todennäköisyyden luottamusväli.

^a Varjostus osoittaa kerroinsuhteiden tilastollisen merkityksen.

^b Kerroinsuhteiden ja niiden luottamusvälien laskemista varten kaikkiin soluihin lisättiin 0,5 aina kun ainakin yksi solu oli nolla.

Viikolla 48 ilmenevän biokemiallisen vasteen ennakointi

Taulukko 24 esittää viikon 48 biokemiallisen vasteen ja viikkojen 12 ja 24 virologisen vasteen välisen yhteyden.

Viikkojen 12 ja 24 varhaisten virologisten vasteiden arvo viikon 48 biokemiallista vastetta ennakoivina tekijöinä vaihtelivat viikoittain ja hoidoittain.

Taulukko 24: PPV, NPV ja kerroinsuhde hoidon aikaiselle biokemialliselle vasteelle, jonka varhainen virologinen vaste ennakoi: Viikon 48 virologinen vaste, joksi on määritetty < 10 IU/mL

HBeAg-tila	Varhaisen virologisen vasteen viikko	Hoito	PPV (%)		NPV (%)		TAI
			Arvio (95 %:n LV)	n/N	Arvio (95 %:n LV)	n/N	Arvio (95 %:n LV) ^a
HBeAg(+)	12	Entekaviiri	NC (NC)	0/0	67,9 (63,4–76,1)	19/28	2,05 (0,01–393,52)
		Tenofoviiri	100 (27,6, 100)	2/2	58,5 (55,1, 63,9)	31/53	7,00 (0,54, 983,90)
		Kaikki	100 (27,3, 100)	2/2	61,7 (59,7, 65,5)	50/81	8,02 (0,63, > 999,99)
	24	Entekaviiri	66,7 (16,4–98,2)	2/3	68,2 (60,1–80,0)	15/22	4,29 (0,35–101,82)
		Tenofoviiri	58,3 (33,2, 81,0)	7/12	61,4 (54,3, 69,7)	27/44	2,22 (0,61, 8,61)
		Kaikki	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
	12	Entekaviiri	43,8 (25,1, 61,2)	7/16	50,0 (25,1, 74,9)	6/12	0,78 (0,17, 3,53)
		Tenofoviiri	52,9 (35,1, 72,2)	9/17	76,2 (61,2, 89,8)	16/21	3,60 (0,93, 15,39)
		Kaikki	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
HBeAg(-)	24	Entekaviiri	45,8 (36,0, 56,0)	11/24	75,0 (25,2, 98,7)	3/4	2,54 (0,28, 55,45)
		Tenofoviiri	42,9 (32,8, 53,1)	12/28	80,0 (53,0, 97,1)	8/10	3,00 (0,61, 22,34)
		Kaikki	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

LV = 95 %:n profiilin todennäköisyyden luottamusväli, NC = ei laskettavissa

^a Kerroinsuhteiden ja niiden luottamusvälien laskemista varten kaikkiin soluihin lisättiin 0,5 aina kun yksi solu oli nolla.

Viikolla 48 ilmenevän serologisen vasteen ennakointi

Taulukko 25 esittää viikon 48 serologisen vasteen ja viikkojen 12 ja 24 virologisen vasteen välisen yhteyden.

Viikkojen 12 ja 24 varhaisten virologisten vasteiden arvo viikon 48 serologista vastetta ennakoivina tekijöinä vaihtelivat viikoittain ja hoidoittain.

Taulukko 25: PPV, NPV ja kerroinsuhde hoidonajaiselle biokemialliselle vasteelle, jonka varhainen virologinen vaste ennakoi: Viikon 48 virologinen vaste, joksi on määritetty < 10 IU/mL

HBeAg-tila	Varhaisen virologisen vasteen viikko	Hoito	PPV (%)		NPV (%)		TAI
			Arvio (95 %:n LV)	n/N	Arvio (95 %:n LV)	n/N	Arvio (95 %:n LV) ^a
HBeAg(+)	12	Entekaviiri	100 (6,5, 100)	1/1	86,8 (84,2, 93,9)	33/38	18,27 (0,86, > 999,99)
		Tenofoviiri	0,0 (0,0, 72,0)	0/2	82,9 (81,7, 86,0)	68/82	0,95 (< 0,01, 12,45)
		Kaikki	33,3 (1,8, 84,3)	1/3	84,2 (83,1, 86,8)	101/120	2,66 (0,12, 29,11)
	24	Entekaviiri	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Tenofoviiri	18,8 (3,1, 39,1)	3/16	84,1 (80,6, 89,1)	58/69	1,22 (0,25, 4,59)
		Kaikki	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

LV = 95 %:n profiilin todennäköisyyden luottamusväli.

^a Kerroinsuhteiden ja niiden luottamusvälien laskemista varten kaikkiin soluihin lisättiin 0,5 aina kun yksi solu oli nolla.

Viikon 48 virologisen vasteen, joka on määritelty HBV:n DNA:n pitoisuudeksi < 50 IU/mL (vaihtoehtoinen määritelmä), ennakointi

Varhaisten (viikot 12–24) ja viikon 48 virologisten vasteiden vaihtoehtoiset määritelmät arvioitiin myös (ks. vaihtoehtoiset vasteiden määritelmät yltä).

Viikkojen 12 ja 24 kliinisen käytettävyyden päätetapahtumien ja virologisen vasteen välinen yhteys näiden virologisen vasteen vaihtoehtoisten määritelmien perusteella on koottu seuraaviin taulukoihin: Taulukko 26 (virologinen vaste), Taulukko 27 (biokemiallinen vaste) ja Taulukko 28 (serologinen vaste).

Taulukko 26: PPV, NPV ja kerroinsuhde hoidonaikaiselle biokemialliselle vasteelle, jonka varhainen virologinen vaste ennakoi: Viikon 48 virologinen vaste, joksi on määritelty < 50 IU/mL

HBeAg-tila	Varhaisen virologisen vasteen viikko	Hoito	PPV (%)		NPV (%)		TAI
			Arvio (95 %-N LV)	n/N	Arvio (95 %-N LV)	n/N	Arvio (95 %-n LV) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekaviiri	34,2 (26,9, 39,2)	13/38	66,7 (16,1, 98,2)	2/3	1,04 (0,09, 23,60)
		Tenofoviiri	55,1 (51,9, 59,4)	43/78	83,3 (43,5, 99,2)	5/6	6,14 (0,93, 120,54)
		Kaikki	48,3 (45,6, 51,3)	56/116	77,8 (45,3, 97,1)	7/9	3,27 (0,75, 22,54)
	24	Entekaviiri	65,0 (51,3, 81,2)	13/20	100 (86,3, 100)	18/18	66,59 (7,20, > 999,99)
		Tenofoviiri	72,4 (64,7, 80,6)	42/58	88,9 (74,6, 97,2)	24/27	21,00 (6,28, 97,36)
		Kaikki	70,5 (63,5, 77,9)	55/78	93,3 (84,0, 98,3)	42/45	33,47 (10,81, 148,13)
	12	Entekaviiri	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Tenofoviiri	93,0 (89,1, 97,5)	53/57	60,0 (21,3, 93,3)	3/5	19,87 (2,62, 191,49)
		Kaikki	96,3 (94,4, 98,7)	105/109	60,0 (21,1, 93,3)	3/5	39,37 (5,24, 376,77)
HBeAg(-)	12	Entekaviiri	100 (NC)	47/47	0,0 (NC)	0/4	NC
		Tenofoviiri	93,9 (88,6, 98,3)	46/49	30,8 (6,7, 52,4)	4/13	6,81 (1,30, 39,97)
		Kaikki	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)
	24	Kaikki					

LV = 95 %-n profiilin todennäköisyyden luottamusväli, NC = ei laskettavissa

^a Varjostus osoittaa kerroinsuhteiden tilastollisen merkityksen.

^b Kerroinsuhteiden ja niiden luottamusvälien laskemista varten kaikkiin soluihin lisättiin 0,5 aina kun ainakin yksi solu oli nolla, elleivät joko viikon 48 vasteet tai viikon 48 ei-vasteet puuttuneet, mikä johti kerroinsuhteen raportointiin NC:nä.

Taulukko 27: PPV, NPV ja kerroinsuhde hoidon aikaisella biokemiallisella vasteella, jonka varhainen virologinen vaste ennakoit: Viikon 48 virologinen vaste, joksi on määritetty < 50 IU/mL

HBeAg-tila	Varhaisen virologisen vasteen viikko	Hoito	PPV		NPV		TAI
			Arvio (95 %:N LV)	n/N	Arvio (95 %:N LV)	n/N	Arvio (95 %:n LV) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekaviiri	33,3 (25,1–39,0)	9/27	100 (6,7–100)	1/1	1,54 (0,07–233,77)
		Tenofoviiri	44,2 (39,6, 48,6)	23/52	66,7 (15,7, 98,2)	2/3	1,59 (0,14, 35,36)
		Kaikki	40,5 (37,1, 43,7)	32/79	75,0 (23,9, 98,7)	3/4	2,04 (0,25, 42,30)
	24	Entekaviiri	50,0 (31,2–69,5)	7/14	81,8 (58,9–97,1)	9/11	4,50 (0,79–37,15)
		Tenofoviiri	52,5 (44,0, 61,8)	21/40	81,3 (60,1–96,7)	13/16	4,79 (1,30, 23,28)
		Kaikki	51,9 (44,1, 60,2)	28/54	81,5 (66,4, 93,1)	22/27	4,74 (1,66, 15,82)
HBeAg(-)	12	Entekaviiri	46,4 (39,5, 52,6)	13/28	NC (NC)	0/0	0,87 (< 0,01, 166,17)
		Tenofoviiri	40,0 (33,6, 46,3)	14/35	100 (41,4, 100)	3/3	4,72 (0,41, 653,11)
		Kaikki	42,9 (39,6, 46,7)	27/63	100 (41,2, 100)	3/3	5,27 (0,48, 720,38)
	24	Entekaviiri	44,0 (34,4, 52,7)	11/25	66,7 (16,3–98,2)	2/3	1,57 (0,13, 36,42)
		Tenofoviiri	41,4 (31,3, 51,1)	12/29	77,8 (48,6, 97,1)	7/9	2,47 (0,49, 18,57)
		Kaikki	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

LV = 95 %:n profiilin todennäköisyyden luottamusväli.

^a Varjostus osoittaa kerroinsuhteiden tilastollisen merkityksen.

^b Kerroinsuhteiden ja niiden luottamusvälien laskemista varten kaikkiin soluihin lisättiin 0,5 aina kun ainakin yksi solu oli nolla.

Taulukko 28: PPV, NPV ja kerroinsuhde hoidon aikaisella biokemiallisella vasteella, jonka varhainen virologinen vaste ennakoit: Viikon 48 virologinen vaste, joksi on määritetty < 50 IU/mL

HBeAg-tila	Varhaisen virologisen vasteen viikko	Hoito	PPV		NPV		TAI
			Arvio (95 %:N LV)	n/N	Arvio (95 %:N LV)	n/N	Arvio (95 %:n LV) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entekaviiri	16,7 (10,4, 19,6)	6/36	100 (44,1, 100)	3/3	1,49 (0,12, 209,89)
		Tenofoviiri	16,7 (12,9, 18,6)	13/78	83,3 (44,2, 99,2)	5/6	1,00 (0,14, 19,98)
		Kaikki	16,7 (13,9, 18,1)	19/114	88,9 (58,8, 99,5)	8/9	1,60 (0,27, 30,56)
	24	Entekaviiri	30,0 (16,5, 41,6)	6/20	100 (86,3, 100)	18/18	16,59 (1,72, > 999,99)
		Tenofoviiri	22,4 (16,9, 26,8)	13/58	96,3 (84,7, 99,9)	26/27	7,51 (1,37, 140,31)
		Kaikki	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

LV = 95 %:n profiilin todennäköisyyden luottamusväli.

^a Varjostus osoittaa kerroinsuhteiden tilastollisen merkityksen.

^b Kerroinsuhteiden ja niiden luottamusvälien laskemista varten kaikkiin soluihin lisättiin 0,5 aina kun ainakin yksi solu oli nolla.

Päätelmät

Tulokset osoittavat kokonaisuudessaan, että Aptima HBV Quant -määrityksellä voidaan mitata HBV:n DNA-pitoisuudet lähtötilanteessa ja hoidon aikana, mikä auttaa hoidon virusvasteen arvioinnissa. Tämä tutkimus osoitti, että varhaiset virologiset vasteet viikoilla 12 ja 24, jotka toimivat viikon 48 virologista vastetta ennakoivina tekijöinä, vaihtelivat viikoittain ja hoidoittain.

Aptima HBV Quant -määritystä voidaan käyttää kroonisen HBV-infektion saaneiden, HBV-viruslääkehoitoa saavien potilaiden hoidon apuvälineenä.

Lähdeluettelo

1. **Maailman terveysjärjestö.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Tarkistettu syyskuussa 2022.
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-592.
3. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
4. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93–133.
5. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157–163.
6. **Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. Tammikuu 2016;63(1):261-83.
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
8. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
9. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002, Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Ghany MG, Perrillo R, Li R et al.** Characteristics of adults in the Hepatitis B Research Network in North America reflect their country of origin and hepatitis B virus genotype. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(1):183–192. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.028>.

Yhteystiedot ja versiohistoria



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgia

**Australialainen
toimeksiantaja**
Hologic (Australia ja
Uusi-Seelanti) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Maakohtaiset teknisen tuen ja asiakaspalvelun sähköpostiosoitteet ja puhelinnumerot ovat saatavilla osoitteessa www.hologic.com/support.

Euroopan unionissa laitteeseen liittyen tapahtuvista vakavista vaaratilanteista pitää ilmoittaa valmistajalle ja sen jäsenvaltion toimivaltaiselle viranomaiselle, jossa käyttäjä ja/tai potilas asuu.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion ja niihin liittyvät logot ovat Hologic Inc:n ja/tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä ja/tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa. Kaikki muut tässä pakkausselosteessa olevat tavamerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Kaikki muut tässä pakkausselosteessa olevat tavamerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Yksi tai useampi sivustossa www.hologic.com/patents mainituista US-patenteista voi kattaa tämän tuotteen.

© 2017–2025 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-28215-1701 versio 003

2025-10

Versiohistoria	Päivämäärä	Kuvaus
AW-28215-1701 versio 001	Heinäkuu 2025	Uuden Aptima HBV -määrityksen käyttöohjeen AW-28215 version 001 ensijulkaisu IVDR-säännösten noudattamista varten. Tämä ohje korvaa AW-13182:n.
AW-28215-1701 versio 002	Elokuu 2025	Tavaramerkipäivityksiä BSI-vaatimusten täyttämiseksi.
AW-28215-1701 versio 003	Lokakuu 2025	- Putkiravistelijavaihtoehto lisätty. - Käyttöturvallisuustiedotteita päivitetty.